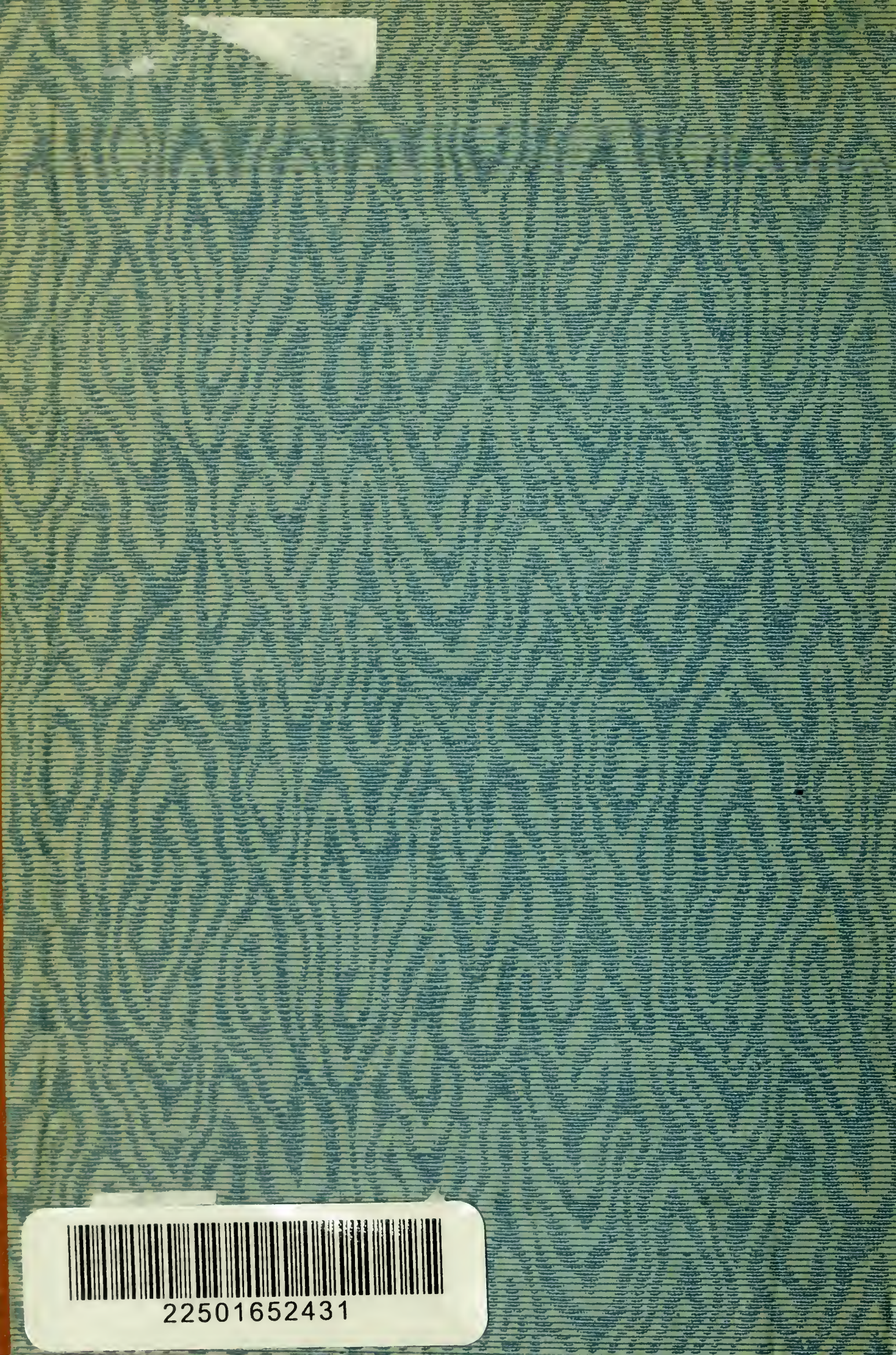
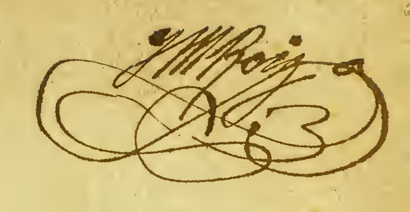










MANUAL

DE

HISTOLOGIA NORMAL

Y

TÉCNICA MICROGRÁFICA

MANUAL
DE
HISTOLOGÍA NORMAL
Y
TÉCNICA MICROGRÁFICA

POR EL

Dr. D. Santiago Ramón y Cajal

Catedrático de Anatomía, por oposición, de la Universidad de Valencia, ex-Ayudante de Anatomía de la Facultad de Medicina de Zaragoza,
Director que fué, por oposición, del Museo Anatómico de esta Facultad,
ex-Oficial médico del Cuerpo de Sanidad Militar, por oposición, etc.,
Catedrático de Histología de la Facultad de Medicina de Barcelona
y actualmente de la de Madrid.

Obra ilustrada con 203 grabados

COPIA DE LAS PREPARACIONES ORIGINALES DEL AUTOR

2.ª edición



VALENCIA

Librería de Pascual Aguilar, editor

Calle de Caballeros, 1

1893



Imprenta de F. Vives Mora, calle de Hernán Cortés, núm. 6.

PRÓLOGO DE LA 1.ª EDICIÓN.

La Histología es una ciencia joven: tan joven, que no ha pasado aún del período de creación. Hanse acumulado apresuradamente materiales de construcción, y no ha habido tiempo para justipreciarlos y ordenarlos de un modo conveniente. En tales circunstancias es casi imposible trazar el cuadro fiel de los conocimientos de una ciencia. Dificultan este empeño, la intensidad del movimiento bibliográfico, lo contradictorio de las observaciones, lo movedizo de las hipótesis y, sobre todo, la necesidad de juzgar según propias pesquisas los hechos anunciados, á fin de saber á qué atenerse sobre su certeza y alcance. Así, que estamos muy lejos de creer que hemos acertado á publicar un buen libro de Histología. A despecho de los diez años que ha durado su preparación y de los cuatro transcurridos desde la publicación de sus primeras entregas, esta obra debe considerarse solamente como un ensayo incompleto, cuyas lagunas y defectos solo podrán corregirse en sucesivas ediciones.

Con todos sus lunares y deficiencias, en él se marca una tendencia que esperamos será justamente apreciada por los que en España se consagran á los trabajos micrográficos. Hemos procurado, ante todo, hacer una obra personal, con fisonomía científica propia, en cuyas páginas no se encierren otras descripciones que las que arranquen de propias observaciones, ni otras figuras que las sacadas de preparaciones originales.

El que sepa el tiempo y la paciencia que exige, á veces, la comprobación de un solo hecho experimental, no extrañará la lentitud con que se ha llevado á cabo la presente publicación. Esta tardanza, entre otros inconvenientes, ha ocasionado cierta falta de unidad en el conjunto y alguna contradicción tocante á la interpretación de

determinadas apariencias de textura; lo que depende de que los dos primeros cuadernos, donde se contienen la Técnica y la Elementología, se escribieron antes (en 1883) de que pudiéramos proporcionarnos los magníficos objetivos de inmersión homogénea de Zeiss. ($\frac{1}{18}$ y 1'30 apochr.)

Por otra parte, cinco años son demasiado tiempo para una ciencia que progresa con tanta rapidez. Muchas cuestiones litigiosas antes del 84 han sido resueltas por completo; y otras nuevas y difíciles, han surgido allí donde se creía haber llegado al último término analítico. No es, pues, de extrañar que, en presencia de nuevos é importantes trabajos y de los recursos técnicos por cada día más perfectos de que la ciencia dispone, hayamos rectificado alguna vez nuestras opiniones. El lector, como es natural, deberá estimar como valederas las más recientemente expuestas en el texto.

No se crea que estas dilaciones en la publicación de los cuadernos hayan perjudicado al *modernismo* del libro; al contrario, han hecho posible nuestro deseo de dar juzgados y comprobados los más recientes trabajos sobre la textura histológica. Citaremos, como ejemplo, el capitulo del tejido muscular, cuya redacción se hubo de suspender durante un año que costó la comprobación de las modernas investigaciones de Retzius, Rollett, Melland, Van-Gehuchten, etcétera; y el tejido nervioso que solo osamos publicar, después de invertir cerca de dos años en la confirmación y análisis de los brillantes y recientísimos trabajos de Golgi, Mondino, Tartuferi, Ehrlich, Weigert, Freud, Dogiel, etc., etc.

Así que, bien podemos asegurar que nuestro libro resulta, á pesar de haber visto la luz en España, uno de los que con más fidelidad reflejan el estado actual de la ciencia histológica. Y aunque parezca extraño, hemos de decir que en él han aparecido por primera vez, arreglados y dispuestos para la enseñanza elemental, los brillantes estudios de Flemming y Strasburger sobre la kariokinesis, los de Bizzozero sobre las plaquetas, los de Kölliker y Ebner sobre la textura ósea, los de Spina y Spronck sobre las fibras permeables del tejido cartilaginoso, los notables de Golgi, Tartuferi, Dogiel, etc., sobre el tejido nervioso, los de Melland y Gehuchten sobre el muscular, y otras muchas conquistas positivas que solo ahora, y de una manera incompleta, van apareciendo en las obras alemanas de Orth, Brass, Stohr, Todlt, etc.

La porfiada labor de laboratorio á que nos hemos entregado nos ha permitido hallar, aunque en reducido número de puntos, algunos hechos nuevos que, en parte, han sido publicados en revistas nacionales y extranjeras. Pero como algunos solo han visto la luz en el presente libro, nos conviene consignar aquí la fecha de la aparición de cada cuaderno. El 1.° y 2.°, comprensivos de la Técnica y Ele-

mentología, se publicaron en Mayo del 84. El 3.°, que encierra el comienzo de la Histología y el tejido epitelial, en Junio del 85. El 4.°, que abarca el tejido del cristalino, el córneo y la sangre, en Junio del 86. El 5.°, que contiene el tejido conjuntivo, el adiposo, el cartilaginoso y parte del óseo, en Abril del 87. El 6.°, que abraza la terminación del óseo, el dentario y el muscular, en Octubre del 87. Y el 7.°, que comprende el nervioso, en Abril del 88.

No damos en el curso de la obra reseñas bibliográficas completas, por ser impropio de un manual destinado principalmente á los alumnos de Histología; pero damos los títulos de los trabajos más importantes publicados sobre aquellas partes de la ciencia que aparecen hoy más transformadas.

Las figuras intercaladas en el texto han sido, á excepción de dos ó tres, copiadas por el autor de sus propias preparaciones. Hemos procurado que fueran lo más exactas posible y que alcanzaran, en cuanto á la ejecución material, la mayor perfección compatible con la escasa experiencia de nuestros grabadores en este género de trabajo. En este nuestro propósito, preciso es declarar que hemos sido resueltamente secundados por el editor, que no ha reparado en dispendios para mejorar las condiciones materiales de la obra.

Después de lo expuesto, solo nos resta acogernos á la benevolencia del público y rogarle que tenga en cuenta, antes de pronunciar su fallo inapelable, lo laudable y patriótico del empeño y la suma de esfuerzos y sacrificios que el llevarlo á mediano término nos cuesta.

¡Ojalá que los que después de nosotros escriban en España, gozando de mayores talentos y recursos de investigación, lleven á cabo la patriótica empresa de nuestra emancipación científica, siguiendo la senda por la que la joven Italia ha llegado á sacudir la tutela de la ciencia alemana y francesa!

Febrero de 1889.

PRÓLOGO DE LA 2.ª EDICIÓN.

Agotada la primera edición de este libro, cuya publicación terminó en 1889, hemos debido dar á luz, más rápidamente de lo que hubiéramos deseado, la segunda, sin haber podido refundir y transformar enteramente el texto (que peca de un poco difuso), como era nuestro propósito, á fin de hacerle más apropiado á la enseñanza escolar y más ajustado al programa de nuestras explicaciones.

Como era natural, hemos modificado notablemente los primeros capítulos del libro, redactando algunos casi por entero, y hemos añadido acá y allá lo más interesante que, tanto sobre técnica como en lo concerniente á textura nuclear, kariokinesis, conjugación celular, etc., arrojan los trabajos de estos cuatro últimos años.

Madrid, Mayo de 1893.

INTRODUCCIÓN

La Anatomía general es la creación de un hombre de genio, del gran Bichat. Hallábase casi agotado el análisis microscópico y orgánico, cuando, á fines del siglo pasado, tuvo Bichat la feliz idea de estudiar las partes orgánicas bajo otro punto de vista, entresacando del cúmulo de particularidades de la anatomía, aquellos hechos que tienen carácter general, que no son patrimonio de un órgano ni de un organismo, sino factores necesarios de muchos órganos y diversos organismos. Este método fecundo, aplicado con singular talento por su autor, dió origen á la Anatomía general.

Redujo Bichat los componentes simples de los órganos á 21 tejidos fundamentales, encarnó en ellos los atributos de la vida, y pensó que, de igual modo que la Física estudia las propiedades de los cuerpos brutos, la Fisiología debía estudiar las propiedades de los tejidos vivos.

Y cosa extraña, Bichat, en la distinción de los tejidos, en el estudio sagaz y porfiado á que los sometió para conocer sus propiedades, no hizo uso del microscopio, antes bien parece que desconfiaba de este precioso instrumento, quizá porque en manos de sus contemporáneos había sido ocasión de groseros

errores. Privóse Bichat, con rechazar tal recurso, de completar la historia de los atributos de los tejidos con el más importante, el más característico, que es la textura ó composición íntima morfológica, la cual solo el microscopio podía revelarle.

Afirmar que, á pesar de la inmensa variedad de los órganos y aparatos, no hay en todos ellos sino meras combinaciones de algunos pocos materiales de construcción, los tejidos vivos; descentralizar la vida del órgano y confinarla en el tejido como una propiedad exclusiva, era seguramente un gran progreso; mas esto era poco todavía; preciso era llegar á las partes elementales últimas de la trama vital y localizar más hondamente la vida.

Aunque el microscopio de entonces no consentía la ejecución de muy perfectos trabajos analíticos, numerosos investigadores, muchos anteriores á Bichat, habían emprendido la ardua tarea de descubrir los últimos componentes morfológicos del tejido, destejiendo y desenmarañando la urdimbre vital, á fin de reducirla á sus sencillos hilos componentes.

Ya en 1665, medio siglo después de la invención del microscopio por Janssen, Robert Hooke, acertó á distinguir con el mencionado aparato en la trama del vegetal unas partes á manera de celdillas, comparables al panal de la abeja, que designó con el nombre de células y poros *(cells and pores)*. Malpighi, de Bolonia (1671), distinguiólas igualmente y las llamó utrículos, y, casi al mismo tiempo, las dieron á conocer Green y Leeuwenhoek bajo la denominación de vesículas. Por entonces también se iniciaba la técnica histológica con la invención de las inyecciones vasculares por Ruysch y Swammerdam.

Estos descubrimientos, que se sucedieron en brevísimo lapso de tiempo, fueron el punto de partida de innumerables trabajos. Malpighi y Leeuwenhoek, no contentos con sus fecundas pesquisas por el rico campo del mundo vegetal, invadieron, ávidos de nuevas sorpresas, la virgen trama de los ani-

males, y distinguieron por primera vez los glóbulos de la sangre, las células glandulares, musculares y nerviosas; en fin, casi todos los elementos de los tejidos normales.

De igual manera que el espacio, á impulsos del telescopio de Galileo, el mundo de la vida se dilataba y poblaba, merced al microscopio, de innumerables estrellas, las células, focos de vida y de calor.

En medio de aquellas imprevistas maravillas, caminando de sorpresa en sorpresa, estrellándose á cada paso con la esfinge de lo desconocido, no es de extrañar que aquellos sabios, los Colones de la anatomía microscópica, cayeran en inocentes errores, y faltara á sus trabajos ese método científico y esa sistematización, sin los que las verdades adquiridas son á la memoria fatigosas y al entendimiento infecundas. Ocupábanse en ver, sin cuidarse apenas de pensar; acaparaban materiales, sin tener tiempo de reaccionar intelectualmente sobre ellos para organizarlos y comprenderlos.

Con ser tan incompletas las descripciones que nos dejaron, y á despecho de la imperfección de los instrumentos utilizados, una cosa quedó plenamente patentizada: que lo homogéneo de las masas orgánicas es falaz apariencia, y que en el fondo de la trama de la vida, como elemento primordial, hállase tenazmente repetido un diminuto corpúsculo, la vesícula ó el utrículo, de cuya acumulación ó yuxtaposición los seres se constituyen.

La noción celular era entonces en extremo sencilla: una cavidad llena de líquido y rodeada de una membrana; tal era la fórmula estructural del elemento orgánico. Y continuó admitiéndose con esta seductora simplicidad, hasta que, en 1781, el ilustre Fontana reveló la presencia del núcleo y del nucleolo Sirvióse en estas observaciones, por primera vez, de álcalis, ácidos y de sustancias colorantes vegetales; así que, con justo título, se le considera como el padre de la histoquimia. Sin em-

bargo, su descubrimiento del núcleo no adquirió la importancia que se le otorgó más tarde, hasta que Brown confirmó su existencia, generalizándola á todas las células. Meyen, Schleiden, Schwann, Nægeli, comprobaron los estudios de Brown, desentrañando el papel fisiológico del núcleo; y Valentín llamó la atención sobre la existencia del nucleolo, poniendo en boga el ya casi olvidado descubrimiento de Fontana.

Mas para que la célula se estimara como un elemento general de la composición de los organismos, preciso era demostrarla en la trama del animal, como lo había sido en la del vegetal. El ilustre Turpin (1826), tuvo la gloria de entrar magistralmente en esta vía tímidamente abierta por Leeuweenhoek más de 100 años antes. Turpin afirmó antes que nadie que la célula es un elemento fundamental de construcción de los seres vivos, el cual por su yuxtaposición forma tanto los animales como las plantas; que las diferencias que distinguen los primeros de las segundas son meramente accidentales; y, por último, que la materia viviente se rige por iguales leyes anatómicas en todos los organismos.

La demostración de la unidad anatómica de los seres fué un paso inmenso en el camino del progreso; pero no se detuvo aquí Turpin, que fué el hombre de las grandes intuiciones. La estatua de la vida estaba ya modelada con el descubrimiento de la célula; pero faltaba el Prometeo de la fábula que la animara con el fuego sagrado. Y este Prometeo fué el mismo Turpin. Consideraba este sabio la célula, no como un cristal inerte, simple arcilla de construcción, sin más propiedades que las morfológicas, sino como un sér vivo, con propia autonomía, asociado á otros seres tan diminutos como él, para formar el cuerpo de los organismos. Por tan singular modo de ver, los cuerpos vivos quedaban reducidos á enjambres celulares, á simples colonias de ciudadanos, de cuya particular actividad resultaba la vida colectiva ó del Estado. Estas intuiciones de Turpin fueron el germen de la que, con el tiempo, había de ser la

grandiosa teoría celular, la más alta y filosófica de las generalizaciones biológicas.

Las ideas de Turpin tuvieron gran eco en Alemania, donde se conquistaron las valiosas adhesiones de Schleiden y de Schwann. En Francia, Mirbel proclamó parecidas doctrinas. Mas ahora las pruebas afluían de todas partes. Dujardin descubriendo los movimientos de la *sarcoda;* Meyen, Schultze, Hækel dando á conocer la actividad de los protozoarios; Cohn, Nægeli, Truret, De Bary, etc., estudiando la vida de los zoósporos y plasmodias, dieron plena confirmación á las entonces arriesgadas afirmaciones de Turpin.

Faltaba aún, á pesar de tantas conquistas, aclarar un hecho de estructura, común á los vegetales y animales. En el cuerpo de la planta no todo son células, hállanse tubos, fibras, materias intercelulares, disposiciones, en fin, aparentemente irreductibles al tipo celular, y sin cuya reducción sería forzoso admitir otros elementos de construcción de los organismos.

Dutrochet (1837), Hugo Mohl y Schleiden, llenaron este importante vacío, demostrando que todos los elementos de la planta, aun los más distantes por sus diferenciaciones de la forma celular, son simples transformaciones de ésta, y concluyendo que no hay más que un tejido fundamental, el tejido celular.

Al célebre Schwann (1839) estaba reservada la tarea de generalizar ésta y todas las demás afirmaciones de la teoría celular al dominio de los tejidos animales. Estudió, con singular paciencia, los elementos de todos los tejidos, fundando la histología humana y la histogenia; explicó el origen de los elementos orgánicos, aplicando á la esfera animal la hipótesis de Schleiden sobre la generación blastemática de las células vegetales, é hizo resaltar con lógica vigorosa el papel fisiológico que la célula desempeña en la economía animal, con lo que creó, antes que Bernard, la fisiología general. Su célebre libro sobre *La conformidad de estructura y de desarrollo de los ani-*

males y las plantas (1839), fué como el Génesis de las nuevas generaciones de anatómicos, y la potente savia que reanimó el cuerpo ya caduco de la vieja medicina, que oscilaba perpetuamente, sin norte ni medida, del humorismo al solidismo.

Con Schwann llegó la teoría celular de Turpin á todo su floreciente desarrollo. Abarcaba entonces los siguientes extremos:

1.° Existencia general en los animales y plantas de un elemento anatómico, corpúsculo esférico ó de otra forma, compuesto de membrana, contenido ó protoplasma, núcleo y nucleolo.

2.° Afirmación de que todos los tejidos (el vascular, el nervioso, el muscular, etc.) están formados de células, ya simples, ya transformadas.

3.° La de que las células son individuos vivos asociados entre sí para formar el organismo, cuyas funciones son la resultante de la peculiar actividad de aquéllas.

4.° La aseveración de que la célula se engendra en un *blastema, citoblastema,* etc., por un acto de creación, por un fenómeno comparable á la formación de un cristal en una solución salina.

5.° Y el corolario patológico obligado: si la célula es solamente lo que vive en el órgano, ella será solamente susceptible de enfermar, y, por ende, á ella exclusivamente será congruente conducir la acción medicamentosa ó quirúrgica.

Al calor de la nueva doctrina surgió una pléyade de entusiastas observadores que se entregaron con singular tesón á hojear el apenas entreabierto libro de la naturaleza viva. A virtud de estos trabajos, fundáronse en breves años la histología animal, la histogenia, la fisiología celular, la histoquimia, la histología comparada, etc. Purkinje, Ehrenberg, Müller, Valentín, Wagner, Henle, Kœlliker y Schultze, Remack y Leidig, fueron los que principalmente se distinguieron en estas labo-

riosas investigaciones, y condujeron la histología al grado de esplendor en que hoy se encuentra.

Al mismo tiempo, muchos histólogos convertían su actividad, ya ejercitada en el análisis de los tejidos, á una labor más transcendental: al estudio de la célulo-génesis, tan fértil en consecuencias fisiológico-patológicas.

Imperaba por entonces, respecto de este punto, la doctrina célulo-genética de Schleiden y de Schwann, anteriormente indicada, lo cual valía tanto como suponer la generación espontánea de las células. Según esta hipótesis, cada espacio intercelular es una especie de edén, donde se repite el milagro del Génesis, según los caprichos del principio evolutivo orgánico. Corolario forzoso de este modo de ver es la negación de todo vínculo de parentesco entre las unidades vivientes, á despecho de la solidaridad de sus actividades y de la intimidad de sus relaciones anatómicas.

Alzáronse contra esta doctrina Remack (1852) y Virchow (1856), atacando resueltamente la formación celular libre ó blastemática, fundándose el primero en el hecho por él patentizado de que todas las células de las esferas de segmentación del huevo dimanan de una sola, dentro de la cual se engendran por sucesiva segmentación, y apoyándose el segundo en numerosas observaciones de anatomía patológica, que acreditan el parentesco real de los corpúsculos de toda neoplasia. Sólo que, en tanto que Remack afirmó su aforismo *omnis cellula in cellula,* Virchow, menos exclusivo, adoptó su célebre fórmula: *omnis cellula e cellula,* es decir, toda célula procede de otra célula. Este último aforismo se elevó á la categoría de principio biológico, y desde entonces consideróse la doctrina de la generación espontánea ó equívoca tan herética en histología como en zoología.

Las consecuencias del referido principio célulo-genético fueron notables en los dominios de la anatomía y fisiología patológicas. Los elementos del tubérculo, del cáncer, el pus,

en una palabra, las células de toda neoplasia se estimaron como progenie adulterada de las células normales, y las más de las teorías reinantes sobre el origen de los procesos morbosos generales desaparecieron ó se acomodaron al nuevo medio científico.

El libro de Virchow, sobre la patología celular, donde tan radicales ideas se exponían, adquirió en breve tiempo una popularidad sólo comparable con la que gozaron las obras de los grandes novadores sistemáticos de fines del pasado y comienzos del presente siglo. La novedad de la doctrina, los hechos innumerables en que la apoyó, el alto sentido filosófico que en ella palpitaba, la época en que vió la luz, época de transición, cuyo ambiente científico llevaba mezclados y confusos los errores del pasado y las verdades del porvenir, y hasta el talento polémico del autor, contribuyeron poderosamente al éxito grandioso conseguido.

Verdad es que el triunfo de Virchow no ha sido absoluto, pues que todavía se mantienen aferrados á la antigua religión del blastema algunos espíritus tenaces, entre otros el ilustre Robin, Broca y Picot; pero las concesiones hechas diariamente á la escuela triunfante y la transformación continua que en manos de Robin sufre la hipótesis, anuncian para en breve una victoria definitiva, á la que no habrá contribuído poco la teoría celular despojándose de ciertos exclusivismos.

La noción de célula debía sufrir constante evolución. La célula perfecta de Schwann fué despojándose sucesivamente de sus atributos hasta quedar reducida á una masa de protoplasma exenta de núcleo y de membrana. Estos factores considuráronse como meros accidentes, como un lujo de estructura que el elemento orgánico se permite algunas veces, aunque no afecta á la esencialidad de sus funciones.

Y fundóse la teoría protoplasmática. Remack, descubriendo los elementos embrionarios sin cubierta; Cohn, describiendo

los zoósporos de ciertas algas exentos de membrana, y, sobre todo, Hæckel, dando á conocer seres de tan humilde porte, que sólo constan de un pedazo de protoplasma sin forma propia, echaron los cimientos de la nueva doctrina.

Claudio Bernard (1878) fué más adelante aun, pues afirmó que la vida comienza antes que la forma, y que aquélla puede hallarse ligada, no á un molde fijo, sino á un simple arreglo físico-químico. El descubrimiento del misterioso *Bathybius Hœckelii* (1), debido á Huxley en 1868, organismo sin forma propia, sin estructura alguna, hasta sin marcada individualidad, prestó nuevos apoyos á la teoría protoplasmática, llegándose á considerar la vida, no como resultado de una máquina, de una cierta organización, sino como propiedad irreductible de una reunión de principios inmediatos.

Adviértase que, á pesar de estas simplificaciones, la teoría celular no pierde nada de su dignidad y verdad; llámese la célula protoplasma ó plasón, ora se mire la forma como atributo fundamental, ora como accesorio, el sentido general de la concepción de Schwann permanece idéntico. La generalidad del protoplasma como elemento de construcción de los organismos, su autonomía vital, su diferenciación anátomo-fisiológica y, sobre todo, su génesis por escisión, constituyen las notas características, lo verdaderamente sustantivo de la doctrina, y esto permanecerá siempre en pie, cualquiera que sea la noción que del elemento orgánico nos formemos.

En la teoría protoplasmática, la célula es el término final de las evoluciones del protoplasma, el resultado de la diferen-

(1) Se ha puesto en duda por algunos la realidad de este sér, suponiendo que su descubridor, Huxley, había tomado por tal un simple precipitado gelatinoso de sulfato de cal. Pero la existencia de este organismo ó de otro muy semejante ha sido confirmada después por los expedicionarios del *Polaris* en sus pesquisas de los fondos marinos de la Groenlandia. El nuevo protista (?) tan sencillo como el *bathybius*, pues no consiste más que en una masa viscosa de protoplasma informe, ha sido bautizado por Bessels con el nombre de *Protobatybius*.

ciación anatómica indispensable á la división del trabajo fisiológico.

En cuanto á la organización de la célula, el descubrimiento del nucleolo parecía ser el postrer esfuerzo del análisis anatómico.

Describíase el protoplasma como una materia blanda, sin estructura, sembrada de granulaciones, especie de magma constituído por la aglomeración de varios principios inmediatos. Pero he aquí que, en esta sencilla nebulosa, nuevos sistemas se perciben, y surgen nuevos detalles, y toma cuerpo una nueva teoría del elemento orgánico: la teoría del retículum, dentro de la cual engolfados estamos, y cuyos destinos futuros no es posible prever.

Mucho antes de que se formulara la doctrina protoplasmática, habíanse trazado ya los primeros lineamientos de la hipótesis. Ya Stilling, en 1859, vió diseñarse en el contenido de las células nerviosas un intrincado retículo; Leidig mostró igualmente en las gigantes células intestinales del *Asellus* unas redes complicadas de finas hebras que surcaban la superficie de aquéllas. Heitzmann (1873), Flemming (1877 y 1883), Klein (1878) y Strassburger (1880), han completado estos datos y descrito curiosas redes en el núcleo y en el protoplasma, y Carnoy (1884) describe dos retículos nucleares de naturaleza distinta, á más de la red protoplasmática expresada.

En los primeros años de la década actual, Schleicher y sobre todo Flemming y Strassburger, han robustecido la doctrina de la constitución fibrilar de la célula con el descubrimiento de un nuevo proceder genético, conocido con el nombre de *kariokinesis, cinesis* ó *segmentación indirecta.*

La red nuclear de los elementos en vías de segmentación indirecta se transforma en cordón continuo y apelotonado; éste se quiebra en multitud de bastoncitos, que son atraídos después al centro celular, donde constituyen elegante estrella. El astro

madre no tarda en descomponerse en dos más pequeñas estrellas, las que por una evolución retrógrada vendrán á ser los núcleos hijos y la señal de la división del protoplasma. Todo lo cual denuncia en la célula, á más de complicadísima textura, la existencia de fuerzas atractivas y repulsivas, de centros de gravitación que cambian á cada momento á impulsos de un principio directriz desconocido.

Y no se piense que estas delicadas urdimbres y estos extraños movimientos se encuentran solamente en los más humildes representantes de la jerarquía orgánica, porque también han sido confirmados en las plantas superiores, en los insectos, batracios y mamíferos, siendo, por ende, lícito estimarlos como carácter general de la estructura y de la dinámica del protoplasma.

¡Y tales descubrimientos han venido cuando se consideraba el protoplasma como amorfo, sin estructura, y sobre esta idea se edificaban brillantes concepciones!

En vano procuramos sujetar la naturaleza á nuestros cálculos; ella se ríe de nosotros y nos muestra, en el límite de nuestra visión, allá en el confín de la nada, con tantos esfuerzos entrevisto, nuevos horizontes y más dilatados panoramas.

Con harta razón criticaba Tyndall á los histólogos que, por no acertar á resolver con su microscopio una masa orgánica, la declaran incontinenti hialina ó desprovista de textura.

Forzoso nos será, después del reciente fracaso de la doctrina protoplasmática, empezar otra vez la obra para satisfacer nuestra eterna aspiración á la unidad; trabajar con tesón y con firmeza en la resolución del nuevo problema que la naturaleza nos plantea, sin impacientarnos por señalar á las cosas un límite que cuanto más lo perseguimos más se nos escapa.

En el proceso histórico que acabamos de exponer, hemos visto la vida descentralizarse sucesivamente, rechazada del organismo y del órgano por Haller y Bichat, se refugia en el

tejido; Turpin la saca del tejido y la encierra en la célula; Hæckel y Bernard la arrancan de la célula y la depositan en el protoplasma; Fromann, Heitzmann y Flemming, la arrebatan de este baluarte y la encarnan en el retículo.

¿Dónde iremos á parar arrastrados por este afán incesante de fraccionar y de pulverizar la vida?

¿Cuál será el nuevo hogar que la ciencia del porvenir reserva para servir de albergue á esa llama vital siempre fugitiva al soplo poderoso del progreso?

PRIMERA PARTE

TÉCNICA MICROGRÁFICA

Comprende la técnica histológica el conjunto de medios y de procederes empleados por los anatómicos para la demostración de las partes orgánicas elementales.

Se divide en general y especial. General es la parte de la técnica que estudia los métodos de investigación y preparación comunes á todos ó á la mayoría de los tejidos orgánicos, y especial la que expone los medios técnicos que reclama la demostración de cada tejido en particular.

La índole de esta obrita no consiente una exposición completa de todos los recursos analíticos utilizados por el micrógrafo; nuestro objeto es exponer sucintamente los conocimientos fundamentales de la técnica general sin descender á detalles que son del resorte de las obras especiales, reservando algunas indicaciones de técnica aplicada para cuando estudiemos los tejidos en particular.

Cuatro secciones abarca la técnica general: 1.° Instrumentos de observación y sus anejos; 2.° Reactivos; 3.° Métodos histológicos ó de demostración; 4.° Procedimientos de conservación de los preparados histológicos.

SECCIÓN PRIMERA

INSTRUMENTOS DE OBSERVACIÓN Y SUS ANEJOS

CAPÍTULO I

DEL MICROSCOPIO

En su acepción más general, el microscopio designa un instrumento de óptica que, interpuesto entre el ojo y un objeto, permite distinguir en éste detalles imposibles de percibir á la simple vista.

Conócense diversas especies de microscopios, cuya construcción se halla en armonía con el objeto á que se les destina; mas los que particularmente nos interesan son dos: el simple ó de disección y el microscopio compuesto.

A. MICROSCOPIO SIMPLE (fig. 1.ª)

Consta este instrumento: de una platina provista de un agujero central para dar paso á la luz que envía al objeto un espejo cóncavo sujeto por debajo de aquélla, de una columna situada por encima y que soporta un anillo donde se ajustan las lentes simples y de un pie bastante pesado, para dar estabilidad al aparato. Las lentes ó dobletes pueden descender más ó menos á beneficio de una cremallera situada detrás de la columna, á fin de facilitar el afocamiento de la preparación. Además, y este detalle varía según los constructores, la platina se prolonga lateralmente en dos alas que descienden en escalera para dar apoyo á la mano en las operaciones de disección microscópica.

El modelo descrito es el de Nachet. Verick sustituye las aletas de la platina por dos cajones de madera situados lateralmente cerca de aquélla, disposición que ofrece también el de Prazmowski. En el más moderno de Molteni se prescinde de estos accesorios, que tienen el inconveniente de dificultar la iluminación lateral, y se rebaja la platina lo suficiente para que puedan apoyarse las manos en la mesa donde se trabaja.

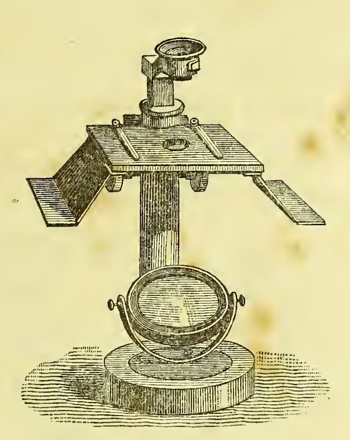


Fig. 1.ª—Microscopio simple.

Ordinariamente los microscopios simples contienen dos lentes, cuyos aumentos oscilan entre 4 y 20 diámetros.

Se comprenderá fácilmente, que con tan escasos aumentos, el microscopio de disección no podrá revelar detalles de textura; pero será de gran provecho en las maniobras delicadas de la disociación de los tejidos por las agujas, y también para orientarnos en el examen de las partes inyectadas, facilitándonos la elección de la zona más útil.

B. Del microscopio compuesto (fig. 2).

Así llamado, porque consta de dos lentes: una inferior, que por hallarse próxima al objeto recibe la designación de objetivo, y otra superior, aplicada al ojo del observador, y por ende, denominada ocular (1).

Dos partes constituyen asociadas todo microscopio: la parte mecánica y la óptica.

1.—Parte mecánica. Está formada por una platina perforada en el centro, para el paso de la luz, y sostenida por una columna (que en los buenos instrumentos puede inclinarse para comodidad del

(1) Para la explicación de la marcha de los rayos luminosos véanse los tratados de óptica.

observador) rematada inferiormente por un pie de forma varia, pero siempre bastante pesado, á fin de proporcionar solidez y estabilidad al aparato; detrás de la platina arranca una columna ascendente, prolongación de la del pie, provista en su terminación de un tubo hendido, á manera de pinza, donde enchufa otro que sostiene en cada uno de sus extremos el ocular y el objetivo. La parte más culminante de la columna que soporta el tubo hállase coronada por un tornillo micrométrico, cuyas vueltas hacen bajar lenta é insensiblemente el objetivo, á fin de conseguir un afocamiento exacto.

Tal es la disposición de la parte mecánica de los medianos modelos. En los instrumentos de lujo se encierran otros ingeniosos mecanismos, por ejemplo: platina movible en dos sentidos transversal y ántero-posterior, á fin de recorrer toda la preparación sin desfocarla, crèmallera especial para el descenso rápido del tubo, revólver porta-objetivo, etc.; pero nosotros aconsejaremos siempre microscopios sencillos para el trabajo ordinario de laboratorio, pues las disposiciones mecánicas complicadas sirven más bien de embarazo que de utilidad (fig. 3, 6 y 7).

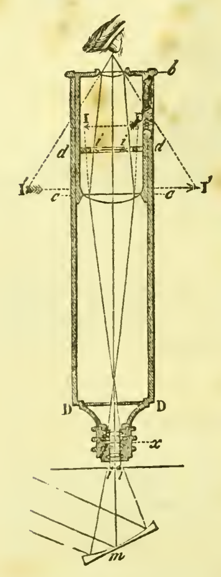


Fig. 2.—Corte vertical del microscopio, y marcha de los rayos luminosos.—*b*, ocular.—*x*, objetivo.—*m*, espejo reflector.

2.—Parte óptica. a.—**Objetivos** (figura 2, *x*). Son pequeños aparatos construídos con varias lentes acromáticas superpuestas y muy próximas.

Tienen los objetivos la forma de un cono de latón que se atornilla en la extremidad inferior del tubo del microscopio. Constituyen el órgano fundamental de este instrumento, de tal modo, que el valor de éste depende del número y de la potencia amplificante de los objetivos. Los hay de varios números, correspondientes á distintos aumentos, según los fabricantes. Un regular microscopio debe contener tres ó cuatro objetivos, cuyos aumentos, en combinación con los oculares y el alargamiento del tubo, alcancen desde 50 á 1.400 diámetros.

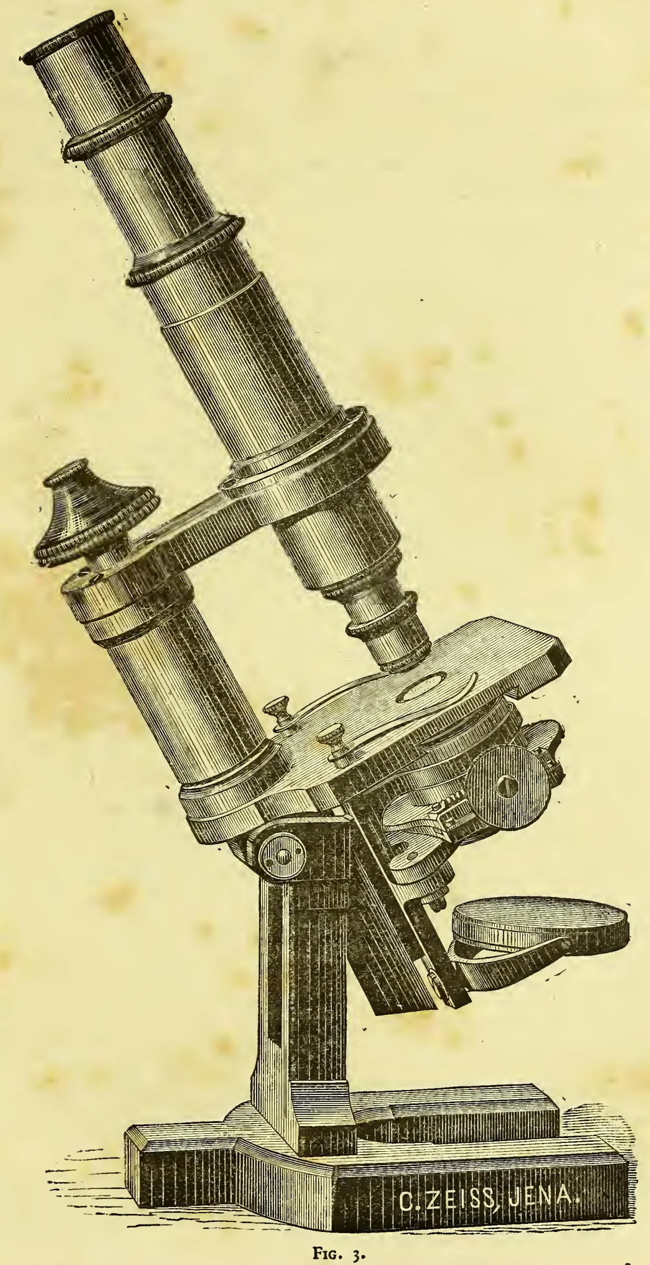


Fig. 3.

Además de los objetivos comunes, existen otros denominados de corrección é inmersión. Éstos ofrecen la particularidad de que, para usarlos, hay que llenar el espacio que media entre la preparación y la cara inferior del objetivo de un líquido, ordinariamente formado de agua ó glicerina, con lo que gana notablemente la imagen en claridad. Amici, que descubrió (1844) el principio de la inmersión, probó que la capa de aire que separa el cubre-objeto del objetivo daña á la intensidad luminosa de la imagen, pues impide el acceso á la lente inferior de éste de gran parte de los rayos marginales que sufren forzosamente una gran desviación al pasar del cristal al aire. Con la interposición de una gota de agua entre el objetivo y cubre-objetos, propuesta por Amici, se consigue moderar la inclinación de los citados haces luminosos, mejorándose la iluminación del campo, y haciéndose factible la aplicación de objetivos de gran potencia, que como es sabido, absorben poderosamente la luz.

Ordinariamente, los objetivos de inmersión construídos por los buenos fabricantes están calculados para ser usados con agua destilada. En estos últimos tiempos se han aconsejado para la inmersión del objetivo sustancias de índice de refracción tan alto como el del crown (1'510); y esta al parecer pequeña modificación ha permitido aumentar el poder definidor y luminoso de los objetivos de un modo notabilísimo. Los objetivos construídos *ad hoc* conócense con el nombre de objetivos de *inmersión homogénea,* y su empleo se reserva para discernir los más delicados detalles de las diatomeas y de la construcción filamentosa de las células. Como líquidos de inmersión se han aconsejado: una solución á partes iguales de *olivan,* gomorresina, que procede de algunas especies vegetales del África oriental, y esencia de cedro; el bálsamo de copaiba (Van Heurck); una disolución de vaselina en el mismo (Abbe), ó simplemente el aceite de cedro. El índice de estas sustancias es casi igual al del crown; de suerte que con su empleo puede considerarse la preparación, el líquido y las lentes del objetivo, como un todo perfectamente homogéneo, en el cual todos los rayos, aun los más oblicuos, son aprovechados.

Entre los objetivos de inmersión homogénea se distinguen, por la claridad y limpieza de las imágenes, los recientemente cons-

truídos por Abbe con la colaboración de la casa Zeiss de Jena. Estos objetivos, llamados *apocromáticos,* se componen de un cristal especial, que consiente una corrección completa de la aberración cromática y de esfericidad. Entre sus propiedades descuella la

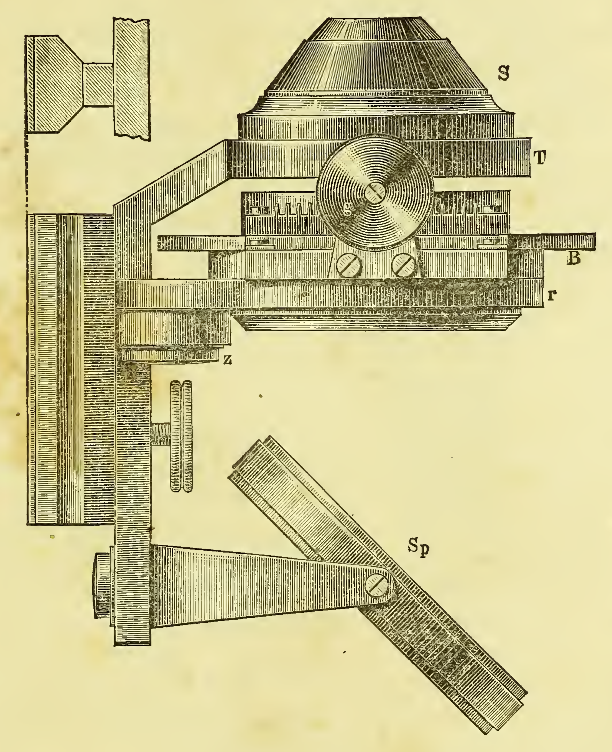


Fig. 4.—Aparato iluminador Abbe.—Vista de perfil.

de poder soportar, sin menoscabo de la imagen, los más fuertes oculares.

b.— **Oculares.** (fig. 2, *b*). Aparatos que se colocan en la extremidad del tubo del microscopio, y que tienen por objeto amplificar la imagen ya aumentada por el objetivo. Constan de una lente su-

perior, ocular, propiamente dicho, y de otra, situada en su extremidad inferior, llamada lente del campo.

Los oculares, como los objetivos, pueden ser de distinta potencia: todo buen microscopio debe contener tres números por lo menos, uno de ellos provisto de micrómetro.

En las observaciones ordinarias, bastan los oculares comunes ó de Huygens. Para la microfotografía deben usarse oculares perfectamente acromáticos, comúnmente conocidos con el nombre de *ortoscópicos*.

c.—**Espejo.** (fig. 2, *m*). Debajo de la platina, y articulado de suerte que pueda ejecutar toda clase de movimientos, hállase el espejo reflector, ordinariamente provisto de dos cristales: uno plano, para iluminar objetos examinados bajo escasas amplificaciones, y otro cóncavo, para los grandes aumentos.

Cuando se trabaja con los objetivos de inmersión homogénea no basta con la luz del espejo, haciéndose preciso concentrarla con un aparato especial llamado condensador. Los más usados son: el de Nachet y el de Abbe. Este último (fig. 4 y 5), está formado de un sistema de lentes de gran abertura y de un porta-diafragmas, donde pueden colocarse diafragmas de diverso diámetro. Una cremallera sirve para lateralizar el porta-diafragmas y producir todos los efectos de la iluminación central, oblicua, á fondo oscuro, etc.

Verick y Reichert han adaptado también á sus microscopios este condensador hasta hace poco solamente construído por Zeiss.

Una de las ventajas más valiosas del condensador Abbe consiste en que, aplicado sin diafragmas, para iluminar un preparado teñido, inunda de luz los contornos de los objetos, denunciando exclusivamente las partes coloradas, circunstancia utilísima en el examen de los microbios que contienen los tejidos patológicos y en la observación de la cromatina nuclear.

d.—**Diafragmas.** Son pequeños cilindros, de abertura diferentemente calibrada, que se enchufan en el orificio de la platina, y cuya misión es moderar la luz de la preparación cuando ésta es muy transparente, y dar más resalte á los contornos de los objetos delicados, observando bajo grandes amplificaciones.

c.—**Lente de iluminar los cuerpos opacos.** Empléase con tal objeto una lente biconvexa, sujeta por cima de la platina, ora al

borde de ésta, ora al tubo del microscopio. A primera vista parece que ha de ser posible aprovechar este modo de iluminación hasta para los grandes aumentos, sobre todo utilizando la luz solar; pero si recordamos que en el afocamiento con los objetivos de gran

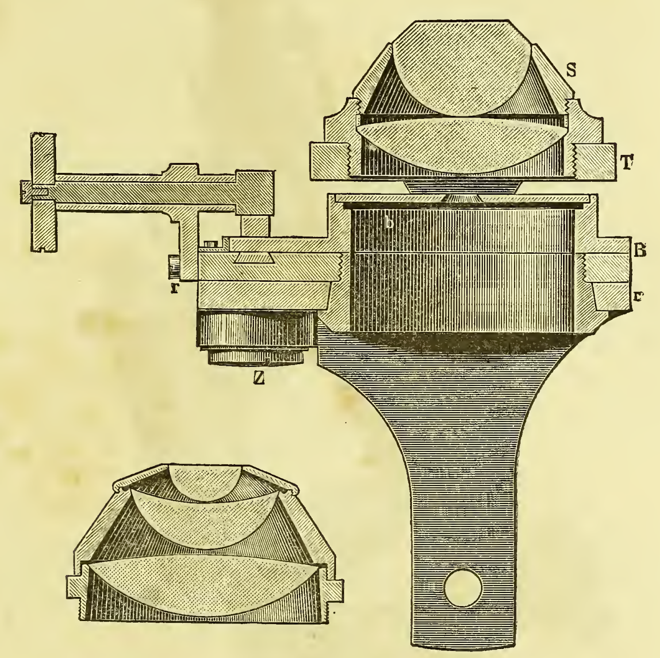


Fig. 5.—Aparato iluminador Abbe.— Sección vertical.

potencia es preciso aproximar la cara inferior de éstos casi hasta tocar el cubre-objetos, y que en esta posición han de servir de pantalla para toda luz llegada de lo alto, se comprenderá fácilmente lo precario de las aplicaciones de la expresada iluminación; tan sólo podrá emplearse bajo débiles aumentos, ó con los que resulten de la combinación de un objetivo de foco muy largo y de un ocular de mucha potencia. Hoy exclusivamente se emplea la lente referida para el examen de las inyecciones opacas.

Los microscopios de demostración, los de dos cuerpos, los binoculares, los químicos, mineralógicos, estereoscópicos, etc., y

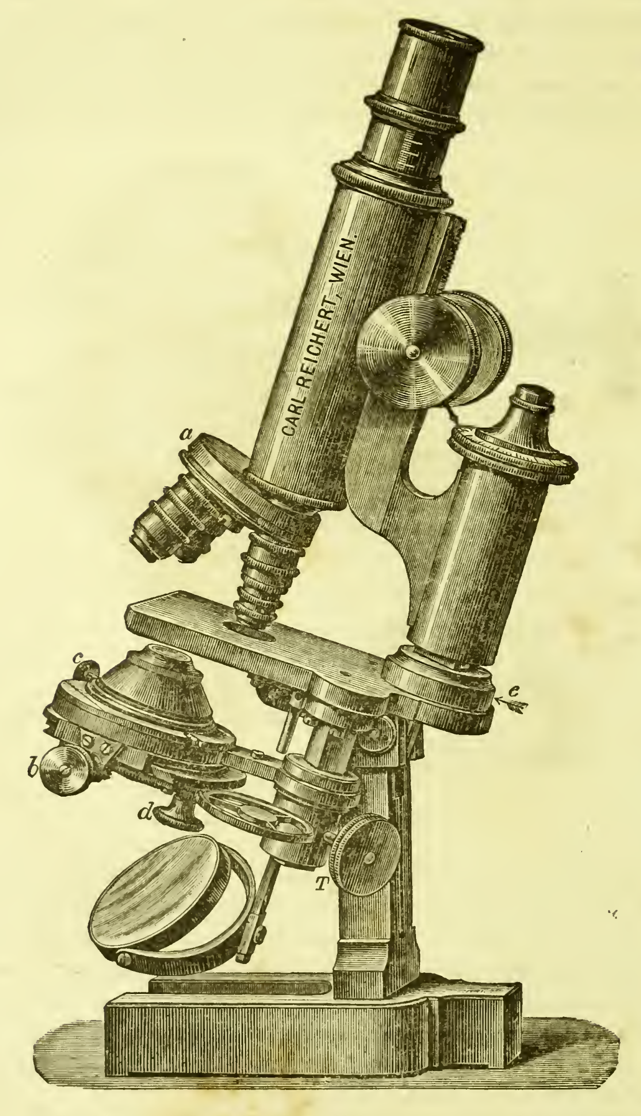


Fig. 6.—Microscopio modelo II, b, de Reichert, provisto del iluminador Abbe y del revólver porta-objetivo.

los accesorios, como goniómetros, revólver porta-objetivo, etc., instrumentos cuya descripción puede verse en las principales obras sobre el microscopio, no nos ocuparán por ahora, pues no son aparatos indispensables al alumno de histología, para el que se destinan estos apuntes (1).

6.—**Elección de microscopio.** Si el estudiante micrógrafo desea adquirir un instrumento serio de observación, debe dirigirse á una casa constructora acreditada y no fiarse de esos microscopios de pacotilla, de aspecto monumental por su tamaño y complicadas disposiciones mecánicas, expuestos por los vendedores de anteojos en sus escaparates. Tales instrumentos, casi siempre sin firma de autor, sobre amplificar muy poca cosa, deben sus aumentos al alargamiento desmesurado del tubo más que á sus imperfectos objetivos.

Rechácese todo microscopio donde la gradación de los aumentos se obtenga por destornillamiento de las lentes del objetivo, y téngase en cuenta que en los instrumentos formales (cuyos objetivos están compuestos de lentes inseparables), la amplificación más eficaz resulta de la aplicación de objetivos de gran potencia

---

(1) Quien desee conocer estos asuntos de un modo completo, puede consultar las siguientes obras modernas que se ocupan así del microscopio como de técnica. Robin: *Traité du microscope*, 1877. H. Frey: *Das Mikroskop und die mikroskopische Technik*, 1886. A. Henocque: Art. *Microscope* del Dic. encic, des Sciènces médicales. Pelletan: *Le microscope, son emploi et ses aplications*, 1876. L. Beale: *The microscope in medicine*, 1878. L. Ranvier: *Traité technique d' histologie* (en publicación). P. Latteux: *Manuel de technique microscopique,* 1877. M. Duval: *Précis de technique microscopique*, 1878. Pulsen: *Microchimie botanique*, 1880. Dippel: *Das Mikroskop*, 1883, (en publicación). El *Journal de Micrographie*, de Pelletan, que forma un volumen anual. M. Behrens: *Hilfsbuch zur Ausführug mikr. Untersuch.*, 1883. J. B. Carnoy: *Biologie cellulaire* (en publicación), 1884. E. Trutat: *Traité elementaire du microscope* (en publicación), 1884. Francotte: *Manuel de technique microscopique applicable à l' histologie,* etc., 1886. H. Fol: *Lehrbuch der vergleichenden microscopischen Anatomie*, 1886. Bizzozero et Firket: *Manuel de microscopie clinique*, 1885. C. Friedlander: *Mikroskopiche technik*, 1886, *Traité des méthodes techniques* & par MM. A. Bolles Lee et F. Henneguy, 1887. *Manuel de technique microscopique* (tercera edición considerablemente aumentada) par Latteux, 1887. *Lehrbuch der Histologie &. mit Einschluss des mikroskopischen Technik* von Philipp Stöhr. 1887. *Cursus der normalen Histolgie zur Einführung in der Gebrauch des Mikroskopes* & von Johannes Orth (cuarta edición) 1886, etc., etc.

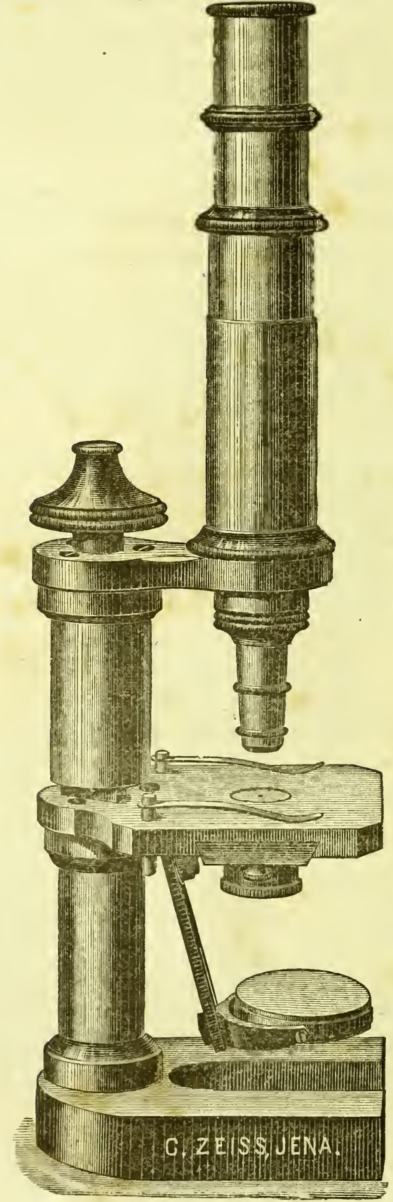


Fig. 7 —Microscopio pequeño modelo Zeiss.

combinados con oculares relativamente flojos, y de un tubo de microscopio corto (155 milímetros).

Entre las casas constructoras, cuyos instrumentos reunen las condiciones apetecidas para los trabajos histológicos y bacteriológicos, se cuentan la de *Zeiss* en Jena, *Seibert* en Wetzlar, *Reichert* en Viena, *Nachet* y *Verick* en París, *Beck* y *Ross* en Londres. Todos estos ópticos fabrican excelentes objetivos á seco y á inmersión; no obstante, respecto de objetivos de inmersión homogénea, nosotros creemos que Zeiss y Reichert llevan marcada ventaja sobre todos los demás ópticos. El $\frac{1}{30}$ apocromático Zeiss, es particularmente un objetivo irreprochable.

El principiante debe, si dispone de pocos recursos, comenzar por comprar un pie mediano modelo (donde puedan disponerse el concentrador Abbe y los demás aparatos accesorios) y un par de objetivos, cuyos aumentos, en combinación con oculares relativamente enérgicos, alcancen de 80 á 500 veces. Llenan estas condiciones: los obj. A y D con los oc. 2 y 4 y *Stativ* V de Zeiss; los obj. 4 y 7 con los oc. 2 y 4 y *Stativ* III de Reichert; y los obj. 2 y 7 con oc. 2 y 4 y *Stativ* II de Verick. Más adelante, conforme sus aficiones y sus recursos aumenten, completará el microscopio con un objetivo fuerte á seco y otro de inmersión homogénea (F y $\frac{1}{18}$ ó $\frac{1}{30}$ apoc. Zeiss) (8.º y 18 Reichert), á los que añadirá el iluminador Abbe, indispensable para observaciones con grandes aumentos. Véanse las figuras 3, 6 y 7.

CAPÍTULO II

MEDIOS ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

1.— **Mesa de trabajo.** Deberá ser grande, sólida y de color negro, para que no fatigue la vista del observador y destaquen perfectamente los objetos sobre ella colocados. Habrá en ella un cristal, una de cuyas caras tendrá cuatro cuadrados pintados de negro, blanco, rojo y verde para facilitar la disociación de los elementos anatómicos, dando lugar, por virtud del contraste, á una percepción más distinta de los mismos. Finalmente, la mesa estará situada delante de una gran ventana con luz directa del cielo ó de una pared blanca y algo distante.

2.— **Porta-objetos.** Son láminas de cristal de 75 milímetros de largo por 25 de ancho, cortadas de un cristal perfectamente exento de estrías, burbujas y desigualdades, que sirven para alojar las preparaciones microscópicas. Para montar cortes en series son necesarios mayores tamaños; comúnmente la dimensión 75 por 35.

3.— **Cubre-objetos.** Laminillas ya cuadradas, ya redondas, de más pequeño tamaño que los porta-objetos, delgadísimas de espesor, que no debe llegar á un quinto de milímetro, y destinadas á cubrir las preparaciones para evitar que el polvo las ensucie y el objeto se manche durante la operación del afocamiento. Sirve además, la referida laminilla, para comprimir y aplanar la preparación haciéndola más transparente, borrando las desigualdades y accidentes que el filo de las navajas ocasiona en la superficie de los cortes.

Compréndese fácilmente que el espesor del cubre-objetos deberá estar en cierto modo en proporción inversa del aumento del objetivo, porque la cortedad de foco de los objetivos muy potentes nos fuerza á poner casi en contacto con la preparación la superficie inferior de los mismos.

4.— **Porta-reactivos.** Consiste el más usado, que es el de Ranvier, en un vaso de cristal cerrado por un corcho con perforaciones para alojar seis pequeños frascos que contienen los reactivos más comunes, y cerrado el todo por una campana de cristal que enchufa con la parte superior del vaso referido. La particularidad más digna de interés de este porta-reactivos consiste en que los tapones de los frascos son verdaderas pipetas rematadas por su extremidad en una dilatación ampuliforme. Para usar un reactivo se toma el tapón-pipeta, cerrando con el dedo la abertura superior á fin de que no obre la presión atmosférica por arriba, y en el momento preciso se deja caer el líquido gota á gota, dando acceso al aire en el interior del tubo.

5.—**Luz para el examen micrográfico.** La mejor es la difusa, procedente de una pared blanca ó de una nube bien iluminada. La que dimana del azul del cielo da á los objetos microscópicos demasiada palidez de contorno y cierta frialdad de colorido, por lo cual no la utilizaremos sino en caso de absoluta necesidad. Tampoco debemos utilizar la luz solar por sobrado intensa, y, sobre todo, porque determina irisaciones en el contorno de los objetos, y un aspecto granuloso brillante que imposibilita toda interpretación.

Puede aprovecharse una luz de gas ó de petróleo, pero á condición de interponer entre ella y el espejo una lente convergente, de tal modo, que la luz corresponda al foco principal de ésta. La luz de gas, suavizada por una bomba de cristal traslúcido, proporciona una suave iluminación muy provechosa, especialmente si no se aplican grandes aumentos.

Existen también lámparas construídas exclusivamente para este objeto: de ellas las más usadas son la de Collins, para petróleo, y la de gas de Vighley. Prazmowski y Verick construyen también lámparas especiales para la micrografía.

La luz artificial que en los pequeños modelos de microscopios es poco útil, proporciona excelentes resultados cuando se concentra á favor del aparato Abbe. Nosotros nos servimos de un fuerte mechero de petróleo (mechero *Colon*, *unicum*, etc.), sobre todo para las observaciones ejecutadas con objetivos de inmersión homogénea y angostos diafragmas.

En ciertas circunstancias (para resolver detalles delicados de las diatomeas y células) convendrá utilizar la luz monocromática. Hartnack construye un aparato especial para producirla; pero se la puede obtener también colocando cristales de colores en el porta-diafragmas del condensador, ó haciendo pasar la luz de una lámpara á través de una cuba de cristal llena de una solución colorada. Para obtener el color azul, que es el más empleado por su gran poder resolvente, se llena el recipiente de una solución concentrada de sulfato de cobre adicionada de algunas gotas de amoníaco.

6.—**Objetos de prueba.** Casi todos los fabricantes de microscopios entregan, con la caja del instrumento, algunos objetos de prueba, que suelen ser cubiertas silíceas de diatomeas. La prueba más generalmente usada para medir la potencia definidora de los objetivos es la cápsula del *pleurosigma angulatum,* cuerpo sumamente pequeño, de forma oblonga y cubierto en su superficie de tres sistemas de estrías entrecruzadas, algunas de una finura tal, que para resolverlas es forzoso apelar á los más poderosos objetivos.

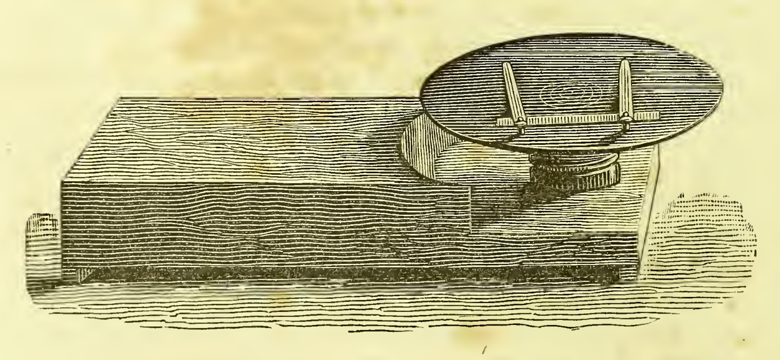


Fig. 8.—Aparato giratorio.

No obstante el valor indudable de estos *tests*, creemos con Ranvier que los mejores son objetos y detalles delicados bien conocidos pertenecientes á los tejidos animales. Así, todo buen objetivo, cuyo aumento esté por encima de 500 diámetros, debe mostrar con perfecta claridad la llamada línea de Krause de las fibras musculares de los insectos.

7.—**Aparato giratorio** (fig. 8.ª). Lo constituye una rueda ho-

rizontalmente situada sobre un rectángulo de madera que gira alrededor de un eje metálico vertical. Destínase este sencillo instrumento para hacer las cementaciones del cristal cubre-objetos sobre el porta-objetos, encerrando definitivamente la preparación en un círculo de betún de Judea.

Más adelante insistiremos sobre el modo de usar este aparatito, que no debe faltar en la mesa de ningún aficionado á los estudios histológicos, pues permite cementar fácilmente una preparación, dándole además un aspecto muy agradable.

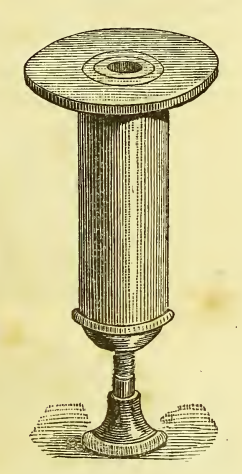


Fig. 9.—Microtomo de Ranvier.

8.—**Microtomos.** Los cortes de tejidos que es preciso practicar en histología deben reunir dos cualidades: ser transparentes y poseer un grosor uniforme. Sin educar largamente la mano, y sin desplegar mucha paciencia, no es posible ejecutar secciones que reunan las expresadas condiciones, máxime si han de tener mucha extensión. De ahí la invención de ingeniosos aparatos que tienden á convertir en acto automático, realizado con la precisión de la máquina, la obra desigual y caprichosa de la mano. Gracias á los esfuerzos acumulados en esta dirección durante los últimos años, el arsenal de la técnica cuenta hoy con numerosos y excelentes microtomos.

a.—**Microtomo de Ranvier.** Es el más sencillo y económico de todos (fig. 9). Consiste en un tubo de metal, terminado en un extremo por un reborde transversal á guisa de plataforma, y por el otro en un tornillo micrométrico recibido en una tuerca de finísima espiral. El tornillo termina superiormente en una pequeña plataforma que se introduce en el tubo, en el que, sin alcanzar su límite más alto, puede subir ó bajar á favor de los movimientos impresos á su extremidad inferior.

Para usarlo, se baja primero el tornillo, se llena el hueco que resulta con el tejido que se desea reducir á cortes finos, sujetándolo con pedazos de médula de saúco machacada, sumérgese el

todo en alcohol, y, después de elevar el preparado con el tornillo hasta que exceda de la platina, se escinde con una navaja todo lo que sobresalga. A beneficio del tornillo se repite el movimiento, propulsando la preparación ligeramente por encima de la platina, y se practica la sección del propio modo. No hay que decir que, según se haga subir más ó menos el preparado, el corte será más ó menos espeso.

Zeiss fabrica un modelo semejante al anterior, pero mucho más sólido y estable. La platina, más ancha y robusta, descansa mediante dos columnas sobre un pie macizo de fundición. El tornillo mi-

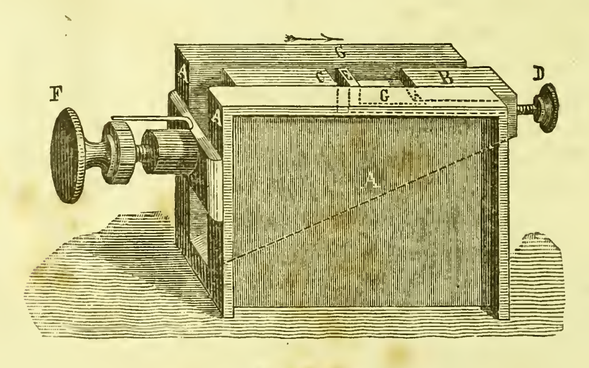


Fig. 10.—Microtomo de Lelong.

crométrico lleva una rueda graduada por la cual cabe determinar el espesor de los cortes.

Eternod ha hecho construir también un nuevo modelo del microtomo Ranvier, cuya modificación más importante consiste en que el objeto en vez de sujetarse en el interior del cilindro por relleno de médula de saúco ó de corcho, se fija á una pinza de tres ramas que puede subir ó bajar á impulsos del tornillo. Reichert posee otro pequeño modelo muy semejante al anterior.

b.—**Microtomo de Lelong** (fig. 10). Imagínese un canal de fondo aplanado limitado lateralmente por dos láminas metálicas verticales, quepor arriba terminan en una superficie plana (G). El fondo del canal está inclinado de modo que por un extremo es dos veces más profundo que por el otro. Dentro de él se desliza una

pieza en forma de cuña que viene á llenar el hueco citado y cuyo nivel superior (C) puede variar según que suba ó baje por el plano indicado. En la parte superior de esta última pieza hay una mortaja ó hueco donde se ajusta la pieza anatómica seccionable; y á favor de un tornillo (F) que gira en una tuerca fija á uno de los extremos del aparato, la cuña puede deslizarse por el plano indicado, sobresaliendo más ó menos la preparación del límite superior de las láminas verticales. Las secciones se practican del mismo modo que en el de Ranvier.

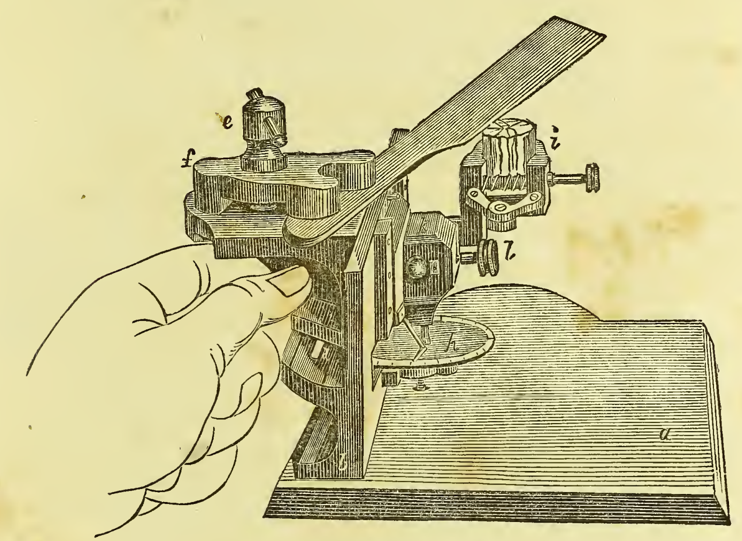


Fig. 11.—El microtomo de Zeiss.

c. — **Microtomo de Körting modificado por Zeiss.** Este aparato (fig. 11) es mucho más completo. El objeto que ha de seccionarse se sujeta á una pinza unida en ángulo recto á una lámina vertical que sube ó baja á beneficio del movimiento giratorio de una rueda graduada (h).

La navaja se afianza mediante un tornillo sobre un bloque metálico, susceptible de resbalar por un carril (a) situado en uno de los lados de una plancha gruesa de metal (b) unida al pie sólidamente. La graduación de la rueda marca el espesor del corte.

d.—**Microtomo de Rivet modificado por Thoma.** Su construcción está basada en el principio del de Lelong, pero se distingue de éste por numerosas é importantísimas modificaciones. Consta, como el de Zeiss, de una plancha vertical fija sobre un pie sólido de fundición. En una de las caras de la lámina vertical hay un reborde oblicuo con relación al plano vertical, donde horizontalmente desliza el bloque metálico portador de la navaja. En la cara opuesta de la lámina existe otra tira metálica saliente, pero dispuesta en doble plano inclinado, uno respecto del horizonte y otro con relación á la vertical. Soporta dicho reborde ó plano inclinado dos piezas importantes: un bloque movible que lleva la pinza donde ha de fijarse el objeto seccionable, y otro que se sujeta á favor de un tornillo sobre el borde del referido plano y cuyo fin es mantener inmóvil la tuerca donde gira un tornillo micrométrico que empuja e bloque portador de la pieza anatómica. Este tornillo anuncia por un sistema de graduación muy ingenioso el número de milésimas de espesor de los cortes. Para mayor seguridad lleva también una graduación el borde superior de la lámina vertical.

Como se ve aquí, están combinados el sistema del montaje de la navaja del microtomo Körting con el de la ascensión del porta-objeto del de Lelong. Pero la adopción de un tornillo micrométrico muy preciso que permite medir la milésima de milímetro de ascenso, la perfección de la pinza, el cuidado con que se ha procurado disminuir la frotación de los bloques (sólo tocan á los carriles por cinco puntos) y la precisión con que todas las piezas están construídas y ajustadas hacen del microtomo Thoma-Joung un precioso instrumento de laboratorio.

Calcado en este sistema ha construído Verick un microtomo que llama Rivet perfeccionado, y sobre el mismo modelo de Joung, pero con nuevas modificaciones que lo avaloran todavía más, fábrica Reichert otros dos microtomos (con pinza de Nápoles, aparato para impedir el arrollamiento de los cortes, etc., etc.).

e.—**Microtomos automáticos.** Son aquellos en que se aprovecha el mismo movimiento de la navaja para hacer subir el porta-objeto en cantidades rigurosamente determinadas.

f.—**Automático de Reichert** (fig. 12). Como todos los anteriores, consta de una pieza de hierro vertical que descansa sobre

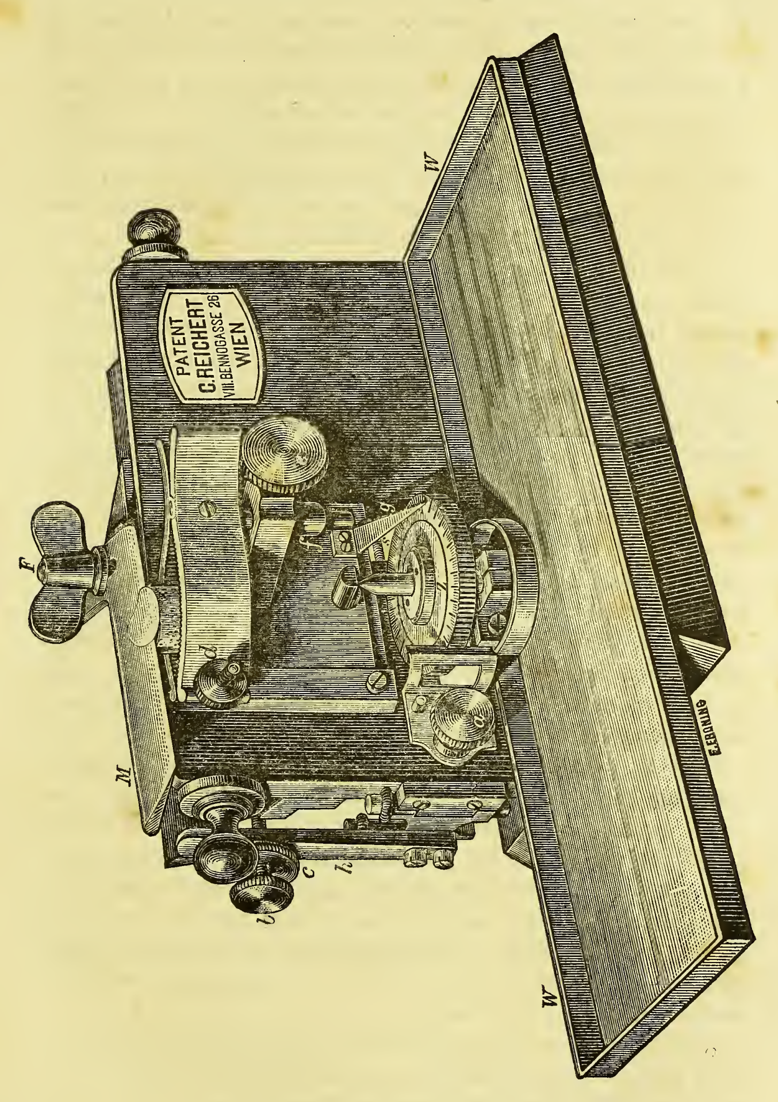


Fig. 12.—Microtomo automático de Reichert.

otra horizontal de fundición sólida y pesada. En uno de los lados de aquélla va fijo el carril donde resbala el bloque porta-navaja, y en el otro desliza verticalmente una lámina que sostiene la pinza porta-objetos. Esta lámina sube ó baja por intermedio de una rueda dentada y graduada Z que se prolonga por debajo en un tornillo micrométrico, invisible en el dibujo. En un extremo del aparato se ve una palanca vertical *h* articulada con otra horizontal terminada por un reborde engranado con la rueda Z.

Cuando el bloque que lleva la navaja choca en la palanca *h* la palanca horizontal tira hacia sí de la rueda Z, y por consiguiente la preparación asciende verticalmente. El campo de excursión de la palanca *h* puede limitarse más ó menos con el tornillo *b*, y así el movimiento de la rueda alcanza diversas divisiones. Cada división de ésta corresponde en los modelos últimos á 3 μ de ascenso. Por otra parte, éste es también el límite inferior de espesor de corte que puede obtenerse trabajando en las mejores condiciones (inclusión en la parafina, navaja bien afilada, etc.). La pinza que lleva la figura presente ha sido sustituída recientemente por otra que, á favor de una articulación en nuez, permite dar al objeto todas las orientaciones.

Verick construye también un microtomo Rivet automático parecido al anterior, pero con notable desventaja, pues con él no pueden obtenerse secciones de menos de una centésima, ni el automatismo se logra más que para esta dimensión.

g.—**El automático de Roy** modificado por Malasez, es un instrumento complicado que se desconcierta con facilidad y que tampoco permite obtener secciones de menos de una centésima. En este aparato el objeto está fijo y la navaja es la que desciende impulsada por un tornillo micrométrico al que va unida. La mano no se aplica sobre la navaja, sino sobre una palanca que hace marchar el tornillo micrométrico. La navaja gira trazando un arco de círculo, seccionando tangencialmente el objeto y funcionando semejantemente á las sierras circulares.

Existen otros muchos microtomos: *el de Schanze*, muy semejante al de Zeiss; *el de Long primitivo*, y el nuevo modelo, en que su autor ha introducido importantes mejoras (tornillo micrométrico graduado, pinza perfeccionada, etc.); *el de Nachet*, gran modelo (ca-

rril de resbalamiento para el bloque conductor de la navaja, tornillo micrométrico ascensor de la pinza, cuba de caoutchouc para ejecutar cortes en alcohol), y otros más, cuya descripción alargaría excesiva é inútilmente este capítulo. Baste decir que ninguno de ellos aventaja ni quizás alcanza á dos de los modelos citados: el Thoma-Joung por deslizamiento y el automático Reichert. Este último es el que preferentemente usamos en los trabajos corrientes de laboratorio por su extrema sencillez y comodidad de manejo.

h.—**Aparatos de congelación.** Los microtomos grandes modelos van acompañados de un accesorio, que consiste en un pulverizador de Richardson, destinado á proyectar un chorro de éter debajo de una placa de zinc, portadora del tejido seccionable y ajustada en el lugar donde se fija la pinza porta-objetos. No hace falta sujetar la pieza anatómica, pues tan pronto como comienza la congelación, el agua que empapa el tejido se cuaja y la fija sólidamente á la placa metálica. La masa orgánica destinada á helarse debe ser muy delgada (3 á 6 milímetros); de otro modo no se endurecería por entero.

En vez del éter, cuya proyección con el pulverizador no deja de ser fatigosa, se ha propuesto *el cloruro de etilo*, que se evapora á la temperatura ordinaria. Para usarlo, se pone en comunicación el sifón, donde el reactivo se contiene con la platina congelante á favor de un tubo de estaño forrado exteriormente de caoutchouc. La temperatura producida es sumamente baja y se obtiene rápidamente.

i.—**Agujas enmangadas** imprescindibles para disociar los elementos de los tejidos, *tijeras finas, escalpelos, erinas, pinzas pequeñas, compresores, sierra pelo de relojero, médula de saúco, frascos, filtros lámpara de alcohol, piedra de afilar,* etc., son accesorios que deben hallarse también en la mesa del micrógrafo. Algunos de ellos, los principales, pueden adquirirse reunidos en una pequeña caja que se vende en los comercios de objetos de micrografía.

CAPÍTULO IV

CONTINUACIÓN DE LOS APARATOS ACCESORIOS.—MICRÓMETROS

Dos problemas tiene que resolver frecuentemente el micrógrafo: 1.° Conocer el aumento resultante de tal combinación de ocular con objetivo. 2.° Averiguar el tamaño real de un objeto microscópico.

1.—**Cálculo de la amplificación del microscopio.** Se consigue utilizando un instrumento llamado micrómetro objetivo, una regla dividida en milímetros y la cámara clara.

a.—**Micrómetro objetivo.** Consiste en una lámina rectangular de latón, del tamaño y figura de un porta-objetos, en cuyo centro hay un agujero donde está engastado un disco de cristal que lleva por una de sus caras grabado un milímetro dividido en 100, 500 ó 1.000 partes. El más usado es el que lleva las divisiones al 1 por 100.

Para usarle, se sujeta en la platina como una cualquiera preparación, procurando colocar el centro del cristalito portador de las lineas exactamente en el eje del microscopio; se afoca después, como de ordinario, teniendo cuidado de no tocar el micrómetro con el objetivo. Para poder descubrir las líneas, que son muy pálidas y finas, convendrá iluminarlas con la luz oblicua, y, aun mejor, con la artificial, que da más resalte á los objetos.

Cuando las líneas se detallen con toda exactitud, se proyecta su imagen con la cámara clara (véase más adelante el empleo de este aparato) sobre una regla dividida en milímetros, situada á cierta distancia del microscopio, pero al nivel de la platina. Ahora nada más fácil que averiguar el aumento del microscopio; basta observar cuántas divisiones del micrómetro caben en una ó varias de la regla. Supongamos, para mayor claridad, que una división del micrómetro, que vale una centésima (pues que éste lleva un milímetro dividido en 100 partes), iguala exactamente ó cubre el mismo espacio que un milímetro de la regla; luego la centésima, valor de

las líneas del micrómetro, se ha aumentado hasta un milímetro, y, por consiguiente, el sistema de lentes del microscopio aumenta 100 veces.

He elegido adrede el caso más sencilllo que se puede presentar, pero en la práctica rara vez sucede esto; generalmente una linea del micrómetro llena varias líneas, y á veces no exactamente, de la regla. Por ejemplo: una división del micrómetro ocupa cinco de la regla, se ha hecho, pues, igual á 5 milímetros; luego aumenta el microscopio 500 veces. Supongamos lo contrario: 2 divisiones del micrómetro objetivo llenan una de las de la regla, es decir, que 2 centésimas igualan 1 milímetro; correspondiendo cada centésima á medio milímetro, resultan 50 diámetros de amplificación.

Cuando no coinciden una ó dos líneas del micrómetro objetivo con una ó dos de las divisiones de la regla, procúrese llegar á una correspondencia exacta, superponiendo mayor número de líneas. Imaginémonos que una línea del micrómetro corresponde á una línea y una fracción de la regla; buscaremos entonces la igualdad en mayor número de líneas para facilitar el cálculo: suponiendo que 12 de la regla, por ejemplo, cubran 10 divisiones del micrómetro, tendremos que la amplificación del microscopio es de 120 diámetros.

Para resolver estos casos por modo sencillísimo, se empleará la fórmula $A = K\frac{R}{M}$, en la cual A, quiere decir aumento; K, expresa la relación de magnitud existente entre las líneas de la regla y las del micrómetro; R, indica el número de las divisiones de la regla, y M, las del micrómetro. Supongamos que hemos determinado que 24 líneas de la regla igualan á 4 del micrómetro, y demos por sentado que la relación entre las líneas de éste y de aquélla es 100, puesto que el micrómetro está dividido en centésimas; tendremos: $\text{Aumento} = 100\frac{24}{4} = 600$; es decir, que nuestro microscopio aumenta 600 veces.

Cuando se tiene el hábito de mantener abiertos ambos ojos en la observación micrográfica, se consigue con facilidad ver, sin ayuda de cámara clara, las líneas del micrómetro proyectadas sobre una regla dividida en milímetros.

En realidad cabe prescindir hasta del micrómetro objetivo, sobre todo si no se aspira á una gran exactitud. Como los elementos microscópicos de ciertas preparaciones, los hematíes, por ejemplo, tienen un tamaño bien conocido, basta que proyectemos uno de ellos sobre la regleta, para averiguar con bastante aproximación el aumento empleado. Figurémonos, por ejemplo, que un hematíe llena exactamente un milímetro de la regla: resultará, pues, que un glóbulo rojo, que mide 8 milésimas, iguala un milímetro, ó sean 1.000 milésimas. Para obtener el aumento, dividamos el número de milésimas cubiertas por el glóbulo en la regla por las 8 que expresan el diámetro real de aquél y obtendremos: $\frac{1000}{8} = 125$, valor del aumento del microscopio.

Los micrómetros histológicos deberán contruirse con elementos de tamaño constante, y, si es posible, preparados por desecación, para darles fijeza y gran refringencia de contorno. Los hematíes toleran muy bien este tratamiento, sin perder ni su forma, ni su tamaño.

2.—**Apreciación del tamaño de los objetos microscópicos.** Esta mensuración exige dos micrómetros: el objetivo y el ocular.

a.—**El micrómetro ocular** es una rodaja de cristal que lleva por una de sus caras grabado un centímetro dividido en décimas de milímetro. Está encerrado dentro del ocular, encima de la lente del campo, en el foco precisamente de la superior que puede subir ó bajar, á fin de afocar exactamente las divisiones del micrómetro.

Dos operaciones hay que practicar para determinar el tamaño de un objeto microscópico: 1.ª Hallar, por comparación con el micrómetro objetivo, el valor relativo de las líneas del micrómetro ocular. 2.ª Sustituir el micrómetro objetivo por la preparación, y examinar el número de líneas del micrómetro ocular á que corresponde tal elemento que deseamos medir.

1.ª *Operación.* Dispuesto el micrómetro objetivo en la platina, y colocado el ocular micrométrico en el microscopio, el observador verá claramente diseñarse en el campo dos especies de líneas, unas más finas que pertenecen al micrómetro objetivo, y otras más gruesas que son las del ocular. Nada más fácil que ver cuántas líneas del micrómetro objetivo caben en una ó varias de las divisiones

del ocular. Supongamos el caso más sencillo posible: que, con la amplificación usada, una línea del micrómetro objetivo llena exactamente otra del micrómetro ocular; valiendo la línea de aquél una centésima, es evidente que valdrá otra centésima también la división del ocular. Entiéndase, que esto no significa su valor real, que puede ser cualquiera, y cuyo conocimiento nos es indiferente, sino el valor relativo que la división del micrómetro ocular ofrece, por comparación con las líneas del micr. objetivo, en este caso particular. Sabemos ya, pues, que una línea del micrómetro ocular vale una centésima.

2.ª *Operación.* Prescindamos ahora del micrómetro objetivo, y coloquemos en su lugar un preparado cualquiera, afocándolo bien, de modo que se vean á un tiempo las rayas del micrómetro ocular y los elementos del tejido. Demos por supuesto que el corpúsculo que deseamos medir llena exactamente una línea del ocular, cuyo valor sabemos es de una centésima; por consecuencia, la dimensión del objeto examinado será también de una centésima. En otros términos: A es igual á B, B es igual á C, luego C es igual á A; A, expresa el valor de la línea del micrómetro objetivo; B, la división del micrómetro ocular, y C, el objeto microscópico.

Pero en la práctica, este tan sencillo ejemplo no siempre se presenta, tanto más cuanto que las relaciones entre las líneas de los dos micrómetros varían según los aumentos. Por punto general, dos ó más líneas del micrómetro objetivo llenan, y no con exactitud, varias líneas del micrómetro ocular, con lo que la determinación del valor relativo de las divisiones de éste nos conduce á un número fraccionario. Un sencillo recurso corregirá este inconveniente. Si al examinar las proyecciones de los dos micrómetros hallamos que no se corresponden las líneas en números enteros, acórtese ó alárguese el tubo del microscopio, hasta que la correspondencia de las líneas sea exacta; hallado este punto, se hará una raya en el tubo que marque el grado de alargamiento en que, con tal combinación de ocular y objetivo, 2 líneas, por ejemplo, del micrómetro objetivo valen exactamente 2 ó 4 del micrómetro ocular, con lo cual ya no necesitaremos perder tiempo otra vez en nuevos tanteos. Lo más cómodo es determinar de una vez con todos los aumentos el valor de las divisiones del micrómetro ocu-

lar; valores que escribiremos en una tabla, y, de este modo, nos evitaremos para siempre el empleo del micrómetro objetivo.

Tampoco es lo común que un objeto microscópico, puesto en lugar del micrómetro objetivo, llene exactamente una división del micrómetro ocular, como hemos expuesto en el citado ejemplo: de ordinario, un elemento iguala varias líneas del micrómetro ocular. De todos modos, el cálculo será sencillísimo; no hay más que multiplicar el número de rayas cubiertas por el objeto, por el valor de una de ellas. Así, por ejemplo: si la división del ocular vale dos centésimas y el objeto abarca 8 líneas, el diámetro de éste será 16 centésimas, producto de 2 por 8.

Lo que dijimos al hablar del modo de medir la amplificación de un microscopio por medio de micrómetros histológicos, podría tener aplicación aquí.

Para averiguar por estos micrómetros el diámetro de un objeto, comenzaremos por situar fuera del aparato, pero al nivel de la platina, una regla dividida en milímetros y medios milímetros. Dispuesta la regla, afocada la preparación micrómetro, y proyectados los corpúsculos sobre aquélla por el proceder, ya en otra ocasión indicado (pág. 32), las operaciones se reducen á: 1.° Fijar el valor de una división de la regla, observando el hematíe ó hematíes que la llenan. 2.° Sustituída la preparación micrómetro por los elementos que deseamos medir, observar cuántas líneas de la regleta llenan por proyección esos corpúsculos: se multiplicará el número de líneas por el valor de una de ellas y obtendremos el diámetro buscado.

Claro es que tales evaluaciones, de esta suerte ejecutadas, no pueden llevar el sello de la exactitud; mas son de gran recurso en la averiguación de grandes magnitudes, en las que un error de alguna milésima carece de importancia, y constituirán forzosamente el único recurso con el que, para adiestrarse en la micrometría, podrán contar los faltos de un microscopio completo.

CAPÍTULO V

CONTINUACIÓN DE LOS ANEJOS DEL MICROSCOPIO.—MEDIOS DE REPRODUCCIÓN DE LAS IMÁGENES MICROSCÓPICAS

Las imágenes microscópicas pueden copiarse con la cámara clara, con ayuda de la micro-fotografía y directamente, sin auxilio de ningún aparato.

REPRODUCCIÓN POR LA CÁMARA CLARA

1.—**Cámara clara de Nachet.** Consiste en un paralelepípedo de cristal, alojado en una caja metálica, provista de tres aberturas: una superior, para el ojo del observador, y dos inferiores; de éstas, una corresponde encima del ocular y recibe los rayos emanados del microscopio, y la otra, que es lateral, mira al papel y al lápiz colocados sobre la mesa y destinados al dibujo. El aparato se sujeta, mediante un anillo, encima del ocular, pudiendo efectuar movimientos en varios sentidos.

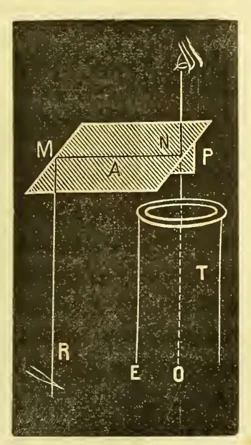


Fig. 13.—Cámara clara de Nachet.

Para comprender la marcha de los rayos luminosos en dicho aparato, consúltese la fig. 13; T, representa el tubo del microscopio; A, el paralelepípedo de cristal; R, un rayo luminoso que proviene del papel y mano del dibujante; P, es un pequeño prisma pegado al paralelepípedo, por cuya virtud éste se convierte, en dicho paraje, en un cristal de láminas paralelas. Compréndese fácilmente, que el rayo R, al llegar al aparato, sufrirá en M la reflexión total, repitiéndose en N el mismo fenómeno, y llegando al ojo del observador en la misma dirección que el rayo O, que dimana del microsco-

pio. El ojo ve juntos, al nivel de la platina, el campo microscópico, el lápiz y el papel de dibujar; por manera que puede recorrerse fácilmente el contorno de los objetos amplificados, siquiera la mano y el lápiz sean referidos fuera del sitio en que realmente se hallan.

2.—**Cámara de Oberhausser** (fig. 14). Tiene la forma de tubo acodado con dos ramas, la una vertical, que se introduce en el tubo

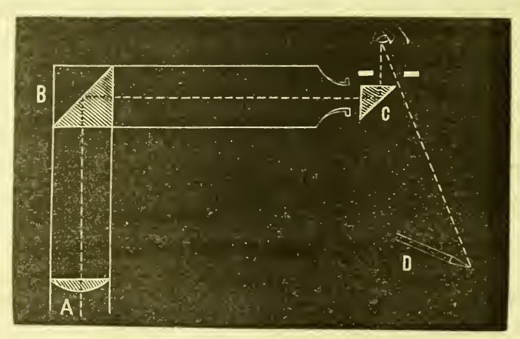


Fig. 14.—Cámara de Oberhausser.

del microscopio, reemplazando al ocular, y la otra horizontal, terminada libremente. Encierra este aparato dos prismas de reflexión total: el primero está situado en la inflexión del tubo, y el segundo

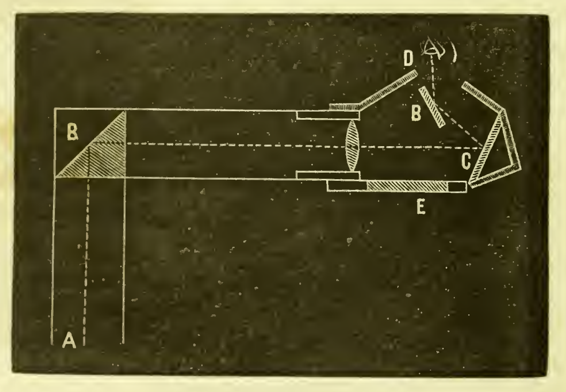


Fig. 15.—Cámara de Hofmann.

de muy reducidas dimensiones, en la extremidad terminal, que es el punto por donde se asoma el observador. La fig. 9 da idea clara de

la marcha de los rayos luminosos. El haz luminoso procedente de la preparación sufre la reflexión total dos veces, una en B y otra en C, llegando verticalmente al ojo del micrógrafo, quien lo refiere abajo, en la dirección prolongada del último rayo luminoso, es decir, sobre la mesa donde están el lápiz D y el papel, cuyos objetos descubre con el mismo ojo.

3.—**Cámara de Hofmann** (fig. 15). Es muy semejante á la anterior. Se diferencia esencialmente de ella en que termina en su extremo libre por una caja provista de dos espejos. La inclinación de éstos es tal, que el rayo luminoso A alcanza verticalmente el ojo del observador, el cual ve á través de un cristal E, situado debajo de la caja, el papel y el lápiz en la misma dirección. A fin de graduar la iluminación del papel, van unidos al aparato varios cristales transparentes, pero de tintas oscuras, que se colocan en E, es decir, en la parte inferior de la caja correspondiente encima del dibujo. Esta cámara se emplea sin ocular, como la de Oberhausser, porque lleva una lente que hace oficios de tal.

4.—**Cámara de Abbe** (fig. 16). En esta cámara el rayo luminoso R que dimana del lápiz y el papel, sufre en un espejo A, oblicuamente situado, una primera reflexión, por virtud de la cual es

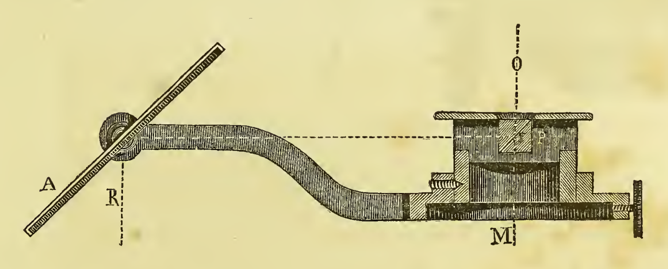


FIG. 16.—Cámara de Abbe.

proyectado horizontalmente sobre el cubo P. Este se halla formado de dos prismas superpuestos, de los que, el superior, ofrece en su cara inferior una superficie argentada, perforada en el centro, para permitir el tránsito de los rayos dimanados de la preparación. El rayo venido del lápiz penetra lateralmente en el prisma, sufre una segunda reflexión en la cara argentada, y penetra verticalmente en

el ojo del observador, juntamente con el haz luminoso M del microscopio.

Dos pequeñas láminas de vidrio ahumado, que pueden colocarse en la montura del prisma, permiten reglar la iluminación de la imagen microscópica, facilitando el dibujo.

5.—**Cámara de Zeiss** (fig. 17). Consiste en una caja metálica que se fija á favor de un anillo encima del ocular; contiene dos prismas que, por reflexiones y refracciones varias, conducen á la pupila del observador, situada en S, los rayos luminosos emanados del lápiz y del papel. Los del microscopio llegan directamente á la misma pupila á través de mitad del orificio que tiene en su parte superior la armadura metálica.

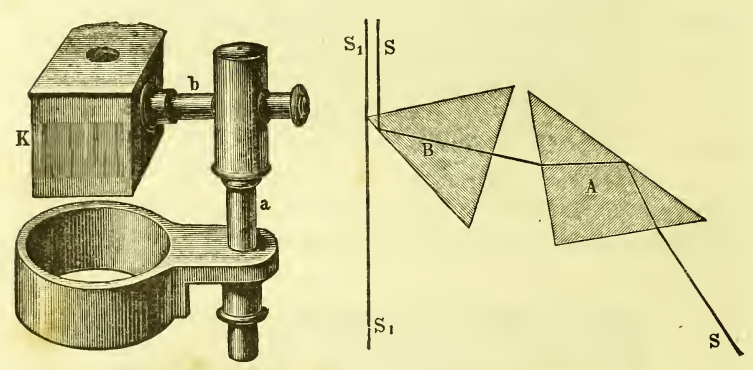


Fig. 17.—Cámara de Zeiss.

Cualquiera que sea el aparato elegido para ayudarnos en la reproducción de las imágenes micrográficas, tropezaremos siempre con grandes dificultades prácticas. Una de las más culminantes consiste en que no es posible percibir con claridad el lápiz al mismo tiempo que la imagen mientras se ejecuta el dibujo; pues si se atiende á la imagen apenas se ve el lápiz, y al contrario. De todos modos ténganse en cuenta las dos reglas siguientes, con las cuales atenuaremos algo las dificultades inherentes á esta clase de dibujo: 1.ª Procúrese que el papel esté mucho menos iluminado que la imagen microscópica; de lo contrario ésta sería invisible. Los cristales ahumados colocados debajo de las cámaras, en el lado que mira al papel, pueden llenar perfectamente este objeto. 2.ª El lápiz

con que la copia se ejecuta debe destacar por su color blanco ó por su brillo sobre el papel, para lo cual será muy conveniente usar porta-lápices metálicos de gran brillo y minas de punta corta y bien afilada.

No hay que hacerse ilusiones acerca de las ventajas de estos aparatos. La cámara clara, aun acostumbrándose á ella por una larga práctica, no puede servir más que para fijar el contorno de los objetos principales: toda labor de detalle debe hacerse sin auxilio de aquel instrumento, que tiene además el inconveniente de ofuscar los pormenores delicados.

REPRODUCCIÓN POR EL DIBUJO

Es el mejor procedimiento cuando se tiene algo de costumbre y algunas aficiones pictóricas. La primera condición del dibujante micrógrafo es saber ver é interpretar lo que ve; por eso no puede separarse el artista del micrógrafo. Todo observador celoso de su reputación científica copia personalmente sus preparados, y no da en el error de confiar la interpretación de las apariencias ofrecidas por los tejidos á los ojos inexpertos de un dibujante extraño. Y es que el micrógrafo no se reduce á la ejecución servil de un facsímile del natural, sino que interpreta lo que ve, agregando de su propia cosecha conjeturas más ó menos verosímiles sobre la textura del tejido examinado.

No tendré que esforzarme en encarecer la necesidad de que el aficionado á los estudios micrográficos se acostumbre á dibujar por sí todos los detalles importantes que arrojen sus preparaciones. Proceder de este modo es siempre conveniente, pero hay ocasiones en que es indispensable, si no se quiere perder el fruto de ímprobos trabajos. Existen preparaciones que, obtenidas después de vencer grandes dificultades técnicas, se alteran rápidamente (las teñidas al cloruro de oro, y ácido ósmico en ocasiones); otras veces se nos muestra, por puro azar del manual operatorio, un detalle delicado que la acción subsiguiente de los reactivos no tardará en disipar por completo; en ocasiones se hace preciso fijar por el dibujo la forma transitoria de un corpúsculo sujeto á rápidas transformaciones (leucocitos).

El material del dibujante micrográfico es en extremo sencillo: todo él se reduce á un libro formado de hojas de papel fuerte y de superficie suave, algunos lápices y un borrador de goma. Los colores al óleo y á la acuarela son detestables para esta clase de trabajo. Los lápices preferidos serán dos marca Faber, uno duro y otro blando; aquél para los perfiles delicados, éste para las sombras. Inútil es advertir que los lápices deben hallarse perfectamente apuntados. Asimismo será de mucho provecho tener á mano algunos lápices de colores finos, por ejemplo: rojo, amarillo y azul, con los que imitaremos las tintas variadas que adquieren los tejidos con los agentes colorantes, etc.

REPRODUCCIÓN POR LA MICRO-FOTOGRAFÍA

Suprimir los errores de la reproducción histológica, donde se encuentran á menudo asociados con hechos reales los prejuicios y errores de interpretación del autor; convertir la copia del natural en un documento consultable en todo caso para asesorarse de la verdad de nuestros juicios, ha sido y es el ardiente deseo de todos los micrógrafos; pero desgraciadamente la fotografía microscópica, único medio que podría satisfacer las exigencias de la ciencia, dando exactitud matemática á las imágenes, presenta inconvenientes de monta, algunos absolutamente invencibles.

El microscopio no puede dar, con absoluta limpieza, más que imágenes de planos matemáticos, y las preparaciones histológicas, aun las más delgadas, ofrecen un determinado espesor, en el cual, y á distintas alturas, están repartidos los elementos anatómicos. De ahí que en un solo instante, dentro de los límites de un solo plano focal, la imagen micrográfica no revela todo lo que hay en la zona examinada, sino una parte mínima de ella. Para observarla por entero es forzoso, á beneficio de movimientos de ascenso y descenso del objetivo, afocar cada uno de los varios planos de que la zona se compone; por manera que el juicio sobre la estructura del tejido analizado se forma reuniendo en una noción total los datos recogidos en capas diferentes. Esta noción final es la que el dibujo histológico representa; pues ya se comprenderá que éste sería harto

incompleto si se limitara á la reproducción de un solo plano focal escaso en elementos y en detalles. Por todo lo cual se concibe cuán incompletas serán las imágenes foto-micrográficas que no pueden representar otra cosa que planos focales rigurosos.

a.—**Material micro-fotográfico**. Los objetos necesarios para los trabajos de micro-fotografía son: 1.° *un microscopio con eje de inclinación* y con objetivos exentos de foco químico; 2.°, *una cámara fotográfica* de gran tiro sin objetivo; 3.°, *una luz intensa*, ya de petróleo, ya eléctrica, etc.; 4.°, *placas sensibles al gelatino-bromuro de plata,* y las *sustancias necesarias para la revelación* y fijado de la

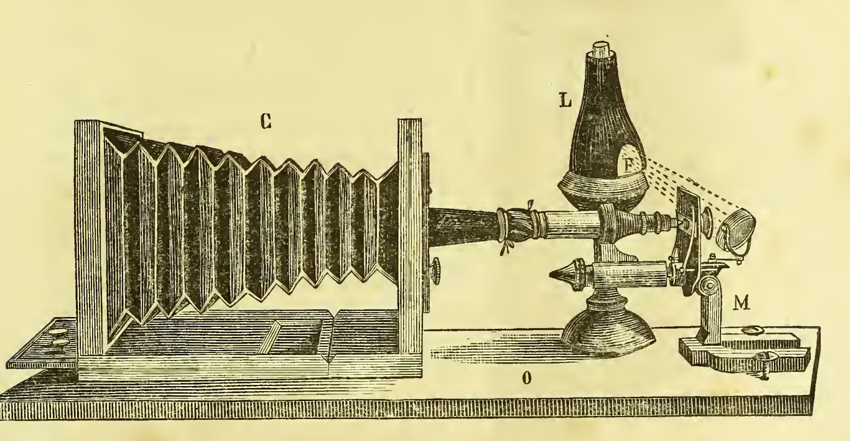


FIG. 18.—Aparato micro-fotográfico ordinario.

imagen; 5.°, *preparaciones histológicas* destinadas á la reproducción fotográfica.

Vamos á ocuparnos sucintamente de todos estos objetos, indicando de pasada su manejo.

b.—**Microscopio y objetivos**. Cualquier microscopio de inclinación puede utilizarse. Debe comenzarse por fijar el pie sólidamente á la mesa portadora de la cámara, y unir el tubo del microscopio, mediante un cono de cartón ó una manga de tela negra y tupida, al orificio de aquélla (fig. 18).

Como objetivo fotográfico puede servir el mismo objetivo del microscopio, el cual proyectará una imagen real del preparado en

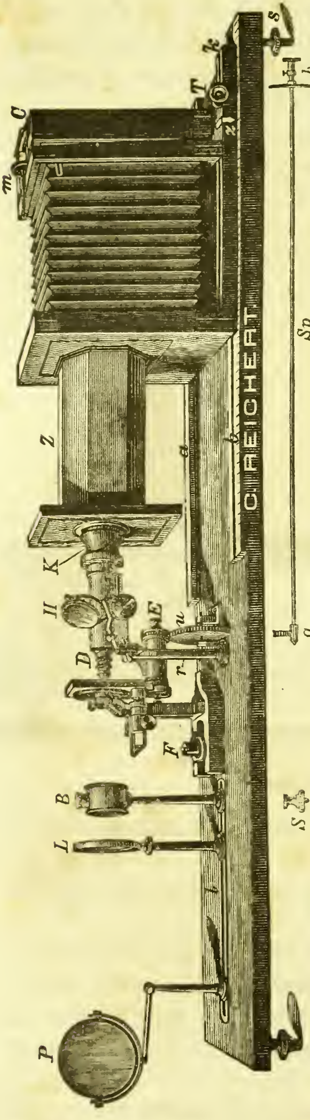


Fig. 19. — Aparato micro-fotográfico de Reichert.

el cristal raspado de la cámara. Si se desea pequeña amplificación, se trabajará sin ocular y con objetivos de foco largo; pero si se trata de obtener imágenes fuertemente aumentadas se utilizarán los objetivos de inmersión en combinación con oculares *ortoscópicos* ó acromáticos.

Es preciso, sobre todo iluminando el preparado con luz blanca, que tanto el objetivo como el ocular estén exentos de foco químico. Algunos de los objetivos ordinarios reunen esta condición que sólo la experiencia puede demostrar. Pero es más seguro trabajar con objetivos especialmente construidos para la micrografía. La casa *Seibert* de Vetzlar proporciona excelentes objetivos de esta especie (convienen particularmente el objetivo $\frac{1}{8}$ y $\frac{1}{2}$ para medianos aumentos, y el VII 6 de inmersión para los fuertes). Los *apocromáticos* de Zeiss, en combinación con los oculares de proyección, son igualmente recomendables.

c.—**Cámara oscura.** Cuando no se pretende ampliar demasiado las preparaciones, basta una cámara fotográfica ordinaria dispuesta como lo muestra la fig. 18. Si no se estira demasiado el fuelle, podrá ejecutarse con la mano el afocamiento mientras se examina la imagen en el cristal raspado; pero si la

imagen ha de proyectarse á gran distancia (cosa indispensable para obtener grandes aumentos), es preciso utilizar un aparato microfotográfico tal como el representado en la fig. 14, en el cual el enfocamiento se realiza á beneficio del movimiento giratorio de una larga varilla engranada con el tornillo micrométrico. Zeiss y Nachet, construyen excelentes modelos de cámaras de esta clase, provistas además de accesorios para iluminar la preparación (condensadores acromáticos, cubas para líquidos coloreados) y fijar el microscopio.

Luz. Los objetivos de poco aumento no exigen más luz que un buen mechero de petróleo. La engendrada por la lámpara de Auer, la producida por una linterna de proyección de tres mechas (*Scioptikon* de Molteni en París, de Talbot en Berlín, etc.), bastan para la mayor parte de los casos.

Mas si se emplean objetivos de inmersión (1'30, ó 1'40, apoctromáticos de Zeiss), estas luces no son ya suficientes, siendo preciso apelar á la eléctrica, á la oxhídrica, y sobre todo á la solar. Esta última es la mejor, á condición de recogerla con un heliostato, y recibirla en un buen condensador acromático, el cual proyecta en la misma preparación que ha de fotografiarse una pura y limpia imagen solar (Moitessier, Koch, Neuhaus).

Placas sensibles. Hoy se utilizan casi exclusivamente las placas al gelatino-bromuro de plata, que reunen á una gran sensibilidad una extremada facilidad de manejo. Generalmente, y dado que las preparaciones estén incoloras ó teñidas de pardo, azul ó violeta, no hay inconveniente en trabajar con las placas ordinarias del comercio; pero si se tratase de objetos teñidos de colores rojos, amarillos ó verdes, sería conveniente usar las llamadas placas *isocromáticas,* caracterizadas por su sensibilidad á dichos colores, sensibilidad que puede prestarse á las placas comunes, sumergiéndolas antes de la exposición en una solución acuosa de eritrosina ó de eosina. Existen casas especiales que fabrican placas isocromáticas sensibles para el verde y amarillo, por ejemplo: la de Otto Perutz de Munich y la de A. Attout-Tailfer de París (1).

(1) Las placas al gelatino-bromuro se revelan en una solución de oxalato-ferroso obtenida por la mezcla de 1 parte de sulfato de hierro al 30 °/o, y 3 de oxalato neutro de potasa en las mismas proporciones. Al cabo de 10 minutos de acción de este baño (que debe estar preparado recientemente), la imagen habrá adquirido todo su vigor; se lava entonces en mucha agua, y se somete al

Preparaciones histológicas. No pudiendo presentar la imagen fotográfica más que un plano focal, se comprende que sea tanto menos defectuosa cuanto más delgada la preparación reproducida. Por lo cual serán siempre preferidos para la copia los más finos cortes de tejido y las membranas delicadas y previamente aplanadas (mesenterio teñido por el nitrato de plata, epiplon mayor, cortes finos á la parafina).

Los preparados teñidos por el método de Golgi (cerebro y cerebelo), el de Weigert Pal, el ácido ósmico y el nitrato de plata, serán fácilmente reproducidos á condición de presentar una delgadez en relación con la profundidad focal del objetivo, teniendo en cuenta que la profundidad ó poder de penetración de éste, es tanto mayor cuanto menor es el aumento y ángulo de abertura (la 1 de penetración se divide por el ángulo de abertura numérica). Esta condición del trabajo microfotográfico explica bien por qué los objetivos de inmersión dan excelentes imágenes (de 800 ó más diámetros) con las preparaciones de diatómeas y microbios, las cuales además de estar fijas sobre el porta-ó cubre objetos, es decir, sobre un solo plano, poseen una delgadez muy superior á la que puede darse á un corte histológico.

Dificultades de la microfotografía. Aparte las inherentes á la na-

---

baño fijador, compuesto de una solución de hiposulfito de sosa al 25 %. Un lavado final, repetido durante varias horas, y el refuerzo del cliché, si resultase débil, en el bicloruro de mercurio, terminarán la operación.

Los que quieran conocer detalladamente estos asuntos consulten las obras de microfotografía siguientes: *Moitessier:* La photographie appliquée aux recherches micrographiques, 1866. *Huberston:* Precis de microphotographie, 1879. *Van Heurck:* La lumière electrique appliquée aux recherches de la microphotographie. *Jour de Micr. de Pelletan,* 1883. *Koch:* Untersuchungeu über Bakterien. (Cohn *Beitrage zur Biologie der Pflanzon* Bd. II. Breslau, 1877). *Viallanes:* Microphotographie etc., 1886. Paris. *Londe. (A)*. La photographie appliquée aux sciences medicales et physiologiques. 1892, París. *Jeserich:* Die Mikrophotographie auf Bomsilbergelatine etc. Berlin, 1888. *R. Zeiss:* Besschreibung und Gebrauchsanweisung des neuen Apparates für Mikrophotographie. Jena, 1888. *Frankel u. Ppeiffer:* Atlas der Bakterienkunde. Berlin, 1889 á 1892. *Neuhaus:* Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschweig, 1890.

Se consultarán también con fruto los tratados especiales de fotografía, por ejemplo, los de Monckhoven, Liebert, Audra, etc. Entre los más modernos deben citarse: Handbuch des practischen Photographen, par *P. Liesegang,* 11.ª edición. Das A. B. C. der modernen Photographie, par K. W. *Burton,* 5.ª edición (traducción del inglés). La photographie instantanée. Paris, 1890, par *A. Londe.* Photographie isochromatique. Paris, 1887, par *Roux.* La photographie appliquée à histoire naturelle, par *Trutat,* Paris, 1891, (2 tirada). La photographie des objets colorés avec leurs valeurs reelles, par Vogel, (traducción del alemán, par Gauthier-Villars), 1887, Paris.

turaleza de estas imágenes, esencialmente analíticas (por no representar más que meros planos locales), la más común deriva de la incoincidencia de los focos químico y óptico, es decir, que la imagen obtenida en la placa no viene tan detallada como la que se proyecta en el cristal esmerilado.

Tres medios cabe aprovechar para corregir este grave defecto: 1.º Trabajar exclusivamente con los objetivos especiales construídos por Zeiss, Hartnack, Seibert, etc., combinados con oculares de proyección. Estos objetivos, además de haber sido privados del foco químico, tienen la ventaja de que el máximo de limpieza de la imagen que proyectan, corresponde á gran distancia (40 ó más centímetros); mientras que en los ordinarios el detalle óptimo de la proyección yace cerca del ocular ó en el ocular mismo. La añadidura á los objetivos ordinarios de oculares de proyección de Zeiss, corrige algo, pero no elimina del todo este grave inconveniente. El 2.º medio estriba en utilizar para la iluminación del preparado, luz monocromática (azul, amarilla, etc.) Así, haciendo pasar la luz solar por una cuba de cristal llena de solución de sulfato de cobre amoniacal, lograríamos una iluminación casi monocromática y exenta por tanto de diferencia focal; pues es evidente que no recibiendo el objetivo mas que una especie de radiación luminosa, la imagen óptica y química son una misma cosa. El tercer medio, de fijo el peor, consiste en determinar pacientemente cuál es la posición del foco químico, una vez fijado en la cámara obscura el plano del foco óptico para un determinado objetivo ó combinación de objetivo y ocular.

Ventajas y porvenir de la microfotografía.— Prescindiendo del carácter documental y objetivo que tiene toda microfotografía bien hecha, obsérvanse en algunas de ellas detalles que no pueden percibirse en el examen ordinario de la preparación. Por ejemplo: Neuhaus descubrió en microfotografías de preparaciones del vírgula colérico unos flagelos ó pestañas que no era posible discernir por la observación directa, y que sólo ahora han sido plenamente demostradas por el método colorante especial de Löffler. Esta mayor definición de ciertas imágenes fotomicrográficas, guarda relación con la pequeñez ó cortedad de las ondas más refrangibles, que son también las más fotogénicas. El rayo azul, el violado y la porción ultravioleta del espectro, usados de manera exclusiva en la iluminación mi-

crográfica aumentan el poder resolutivo del objetivo, como demuestra la fórmula de Abbe $\delta = \frac{\lambda}{2a}$. δ significa el detalle mínimo que resuelve el objetivo, λ la longitud onda, y 2a el doble de la abertura numérica. Se vé, considerando esta fórmula, que cuanto menor sea la longitud de onda ó el valor de λ, en igualdad de ángulo de abertura numérica del objetivo, más pequeño será δ, es decir, el detalle resuelto. Igual efecto se obtendría aumentando el ángulo de abertura numérica (1) del objetivo, lo que explica el gran poder resolutivo de los apocromáticos 1'40, y 1'63 de ap. núm. de Zeiss, comparada con objetivos de igual aumento, pero de menor ángulo. Mas el aumento del poder resolutivo del microscopio dependiente del ángulo de abertura numérica del objetivo toca actualmente á su límite práctico, como ha hecho notar Czapski (2). Los dos factores de la abertura numérica, el ángulo geométrico y el índice de refracción del líquido de inmersión, tienen hoy como expresión máxima 65° y 1'65 (monobromuro de naftalina) respectivamente. Un progreso verdaderamente importante en el poder resolutivo del microscopio, solo podrá obtenerse utilizando exclusivamente los rayos violados ó fotográficos, de una longitud de onda de 0'35 μ, en vez de 0'55 μ, correspondiente á la luz blanca. De esta suerte, un ángulo de apertura 1'40 se convertiría en 2'20, duplicándose casi el poder resolutivo.

La onda 0'35 μ, propuesta por Czapski, tiene la ventaja de ser todavía visible por la retina. Una onda de 0'30 μ de longitud, invisible ya al ojo humano, pero eficaz en la placa fotográfica, daría todavía imágenes más detalladas. Por lo cual, acaso en el porvenir la microfotografía reemplace á la observación directa, siempre que se trate de discernir delicadas estructuras, y en la suposición de que los objetivos se corrijan esféricamente para dichos rayos. Entonces el trabajo de observación tendría lugar, no sobre la preparación y con

(1) El ángulo de abertura numérica no es el ordinario ú óptico de los objetivos, sino el producto del índice de refracción del líquido de inmersión *(n)* por la mitad del seno del ángulo común de abertura (sin u). Esta relación, hallada por Abbe, se expresa: *a=n, sin u.*

(2) *Czapski.* Die voranssichtlich Grenzen der Leisfungsfahigkeit des Mikroskops. *Zeifschr. f. wissenschaft. Mikroskopie.* Bd. VIII. 1891.

la luz blanca que sólo conduce á nuestra retina imágenes groseras, sino sobre la placa fotográfica, sensible solamente á las finas estructuras pintadas por las ondas más breves del espectro.

CAPÍTULO VI.

Aparatos de numeración de los glóbulos.

1—**Proceder de Malassez.** Tres aparatos son precisos:

El micrómetro ocular cuadriculado, el capilar artificial de Malassez y el mezclador Potain.

a—*Micrómetro cuadriculado* (fig. 13). Es un micrómetro ocular que á diferencia de los ordinarios, lleva cuadros lineales en lugar de simples rayas paralelas.

b—*Capilar artificial.* Consiste en un pequeño tubo aplanado de cristal, montado sobre un porta-objetos como una preparación. Uno de los extremos del tubo se levanta del plano del porta-objetos al que está unido, y se enlaza con un tubo de *caoutchouc* destinado á verificar la aspiración del líquido sanguíneo en el capilar. A la derecha del porta-objetos, se ven dos columnas de cifras: en las de la izquierda se expresan las milésimas de milímetro de extensión superficial del capilar, y en las de la derecha las cantidades á que corresponden, en fracciones de milímetro cúbico.

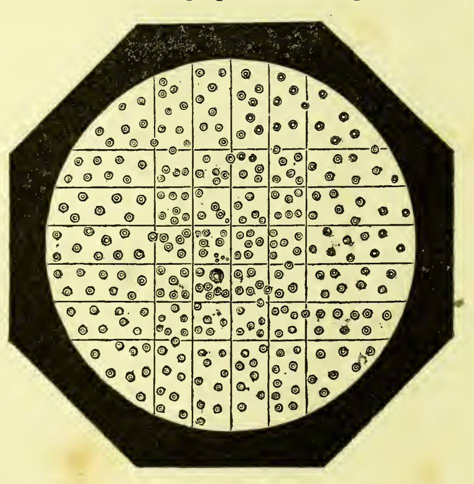


Fig. 13.—Micrómetro cuadriculado visto tal como aparece al practicar la numeración.

Se lee por ejemplo: 500 milésimas corresponden á $^1/_{150}$ de mi-

límetro cúbico de capacidad; 450 equivalen á $^{1}/_{166}$, etc. Estas evaluaciones han sido hechas por el fabricante á fin de que conozcamos la capacidad exacta del número de milésimas del capilar donde los glóbulos han de ser contados.

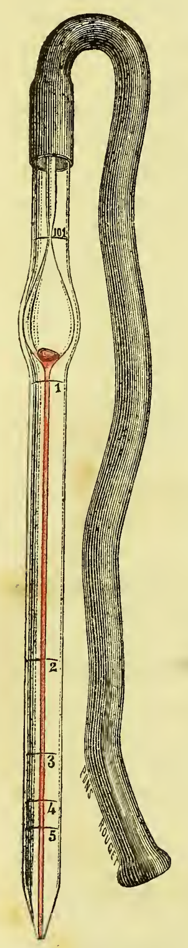


Fig. 14.—Mezclador Potain.

c.—*El mezclador* (fig. 14) es un tubo capilar de vidrio con una dilatación ampular en su trayecto, provista en uno de sus extremos de un tubo aspirador de *caoutchouc.* La capacidad de la dilatación es cien veces más grande que la del tubo capilar que hay debajo.

Antes de proceder á la operación de la numeración de los glóbulos es preciso, á favor del micrómetro objetivo, fijar el valor, en milésimas, de uno ó varios cuadros del micrómetro cuadriculado, operación que se ejecutará de igual modo que la referida con ocasión de la medición del diámetro de los objetos microscópicos. (Véase p. 33.)

Hé aquí cómo se efectúa al acto mismo de la numeración: Se aspira primero sangre pura, recién extraída de los vasos, hasta que la columna del líquido llegue á la raya 1 del mezclador (fig. 14), y después, suero artificial hasta llenar el receptáculo ampular; se agita el tubo, á fin de que la mezcla sea bien íntima, para lo cual la referida dilatación encierra una pequeña esfera de cristal movible; se vierte la dilución sanguínea á la centésima en la extremidad libre del capilar artificial, en cuyo interior penetrará ó por capilaridad ó por aspiración con el tubo de *caoutchouc;* se coloca y sujeta el capilar sobre la platina, y, por último, se enfoca la capa sanguínea, dándose comienzo á la numeración.

Demos por sentado, que el valor relativo de un cuadrado del micrómetro ocular, con el sistema de lentes empleado, es de 300 milésimas, y supongamos que hemos contado ya los glóbulos del

capilar existentes en la zona ó cuadrado referido; ahora falta sólo buscar en el porta-objetos del capilar artificial la capacidad en fracciones de milímetro cúbico á que equivalen las 300 milésimas contadas, equivalencias que, según más atrás hemos expuesto, hállanse inscritas al lado del capilar en dos columnas, y, á seguida, multiplicar el número de glóbulos hallados por el denominador de la fracción de capacidad y el producto por 100, título de la mezcla sanguínea. Para mejor percibir el enlace de estas distintas operaciones, pongamos un ejemplo: en una extensión del capilar de 300 milésimas se han encontrado 200 hematíes; multiplicado ahora este número por el denominador de la fracción de capacidad del capilar á que equivalen las expresadas 300 milésimas (250) tendremos como producto 50.000, cifra que multiplicada nuevamente por 100 título de la mezcla, nos dará el número 5.000.000, cantidad de hematíes correspondientes á un milímetro cúbico de sangre.

2.—**Proceder de Hayem.** La numeración de los glóbulos por el proceder expuesto tiene sus inconvenientes. Aparte de la dificultad de fabricar los capilares artificiales de una planimetría rigurosa para que la capa de sangre tenga por todas partes igual espesor, sucede, frecuentemente, que los glóbulos mezclados al suero penetran con más dificultad que éste en el capilar, de lo cual resulta una sangre más diluída que la obtenida en el mezclador, con los consiguientes errores en el cálculo.

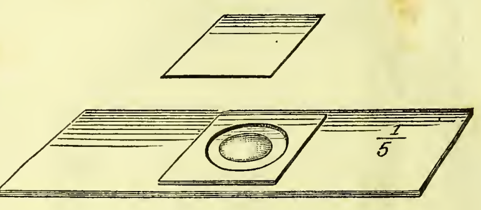


Fig. 15.—Célula de Hayem.

Parte de estos inconvenientes los evita Hayem empleando en lugar del capilar una célula rigurosamente calibrada. Esta célula (fig. 15) está formada por una lámina de vidrio delgado, de un espesor de un quinto de milímetro, pegada á un porta-objetos y agujereada en su centro. Si sobre las paredes de esta célula se pone un cubre-objetos, tendremos una cámara de un espesor conocido, y en la cual los glóbulos podrán fácilmente contarse.

Hé aquí cómo se procede: Comiénzase por disponer los aumen-

tos del microscopio de tal suerte que, un cuadro del micrómetro ocular cuadriculado, venga á tener rigurosamente un quinto de milímetro de extensión, es decir, 20 centésimas. Esta operación se efectuará fácilmente con ayuda del micrómetro objetivo, alargando ó acortando el tubo del microscopio hasta lograr la equivalencia deseada.

Si enfocamos ahora la célula y la miramos á través del micrómetro cuadriculado, tendremos en realidad la proyección de un cubo de un quinto de milímetro de lado.

Con estos antecedentes, la operación de la numeración es ya sencillísima. Llena la célula de sangre diluída, cubierta de una laminilla bien plana, no resta sino contar los glóbulos contenidos en el cuadrado del micrómetro ocular, con lo cual, dicho se está, que los habremos contado en un cubo de $^1/_5$ de milímetro de espesor. Para hallar la cifra globular correspondiente al milímetro cúbico, se multiplicará el número de hematíes por 125 (relación entre un cubo de milímetro de lado y el de un quinto de milímetro), y el producto por el título de la mezcla.

El capilar de Malassez ha sido sustituído últimamente por este autor por una cámara ó célula análoga á la de Hayem, pero con algunas mejoras: 1.ª El cubre-objetos descansa sobre el extremo de unos tornillos que atraviesan el porta-objetos, pudiéndose apartar ó aproximar en cantidades rigurosamente conocidas. 2.ª La parte central del porta-objetos, que es de cristal, lleva un retículum ó micrómetro cuadriculado cuyos espacios tienen un valor conocido. 3.ª El cubre-objetos apoyado sobre los extremos de los tornillos está sujeto mediante un compresor.

Ordinariamente, se dá al espesor de la célula el valor de $^1/_5$ de milímetro, lo mismo que á la anchura del retículo del porta-objetos, con lo que las operaciones de numeración se verificarán exactamente lo mismo que con la célula de Hayem. No hay que advertir que llevando la misma célula el micrómetro, no hará falta el micrómetro ocular cuadriculado.

3.—**Hematímetro de Hayem y Nachet.** Consiste en la sustitución de la célula ordinaria de Hayem por una que lleva en su parte inferior un sistema de lentes que proyectan sobre el cubre-objetos una fotografía de un micrómetro cuadriculado, cuyos intervalos se

nos dán de antemano conocidos. Tiene sobre el retículum de Malassez la ventaja de que no se ensucia con la sangre y se vé con más claridad.

La dilución de la sangre en todos estos procedimientos se efectuará en un suero natural ó artificial. El natural le obtendremos fácilmente de la sangre de cualquier mamífero. El artificial lo prepararemos según la fórmula de Schultze. (Véase el cap. de los reactivos.) Un suero artificial que se recomienda también (Duval), se compone de: un volumen de una solución de goma arábiga, cuya densidad determinada con el pesa-orinas no pasa de 1'020, y tres volúmenes de una solución, á partes iguales, de sulfato de sosa y cloruro de sodio, con una densidad también de 1'020.

El empleo del mezclador Portain tiene graves inconvenientes: la sangre se coagula en el capilar antes de aspirar el suero cuando se emplean sangres no desfibrinadas, y la columna líquida suele romperse en aquella maniobra. Por esto, es preferible, como Hayem aconseja, recojer la sangre fresca con una pipeta calibrada, y ejecutar la disolución en un pequeño vaso de cristal igualmente calibrado.

CAPÍTULO VII.

CONTINUACIÓN DE LOS ANEJOS DEL MICROSCOPIO.—CÁMARAS HÚMEDAS. —CÁMARAS CALIENTES.—MICRO-ESPECTROSCOPIO.

1.—**Cámara húmeda de campana.** La más sencilla y corriente consiste en una vasija de cristal, en forma de bandeja, á medio llenar de agua, y en la que se sumerje el borde de una campana de cristal. Fórmase de este modo un receptáculo de aire saturado de humedad, donde sin temor á la desecación se conservarán las preparaciones no concluidas, las en vías de coloración y las que contienen elementos vivos. Para que las preparaciones no descansen sobre el agua mismo, se utilizará un pequeño aparador formado de varillas de cristal y susceptible de contener algunos porta-objetos.

2.—**Cámara húmeda porta-objetos.** (Fig. 16.) Hay otra cámara más sencilla aún que la anterior, reducida á un simple porta-objetos cerca de cuyo centro ha sido abierto un canal circular profundo.

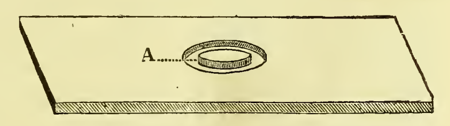


Fig. 16.—Cámara húmeda porta-objetos.

Se emplea poniendo primero una gota de agua en el canal, la preparación fresca sobre el centro del cristal, y cubriendo el todo con una laminilla. La atmósfera saturada de humedad que rodea el contorno del preparado, le resguarda de la desecación, y permite un examen prolongado de los corpúsculos vivos.

Este aparatito tiene especial aplicación al estudio de los movimientos amiboides, pestañas vibrátiles, fenómemos de crecimiento de microbios, etc.

Cámara húmeda de Strasburger. Sencillísima, pues consiste en un trozo de papel chupón agujereado y humedecido que se fija en el centro de un porta-objetos. Puesta la preparación en el espacio

reservado por el papel, se cubre el todo con una laminilla. De cuando en cuando, se humedece el papel absorbente, para que la atmósfera de la preparación se mantenga saturada de humedad.

Cámaras calientes.

1.—**Platina caliente de Reclinghausen.** Es una platina de metal, de forma de herradura, cuyos brazos alargados pueden calentarse á favor de una lámpara. Se coloca esta platina encima de la del microscopio, y sobre ella se sujetan las preparaciones destinadas á ser examinadas bajo una temperatura más ó menos elevada. El calor de la lámpara se transmite por los brazos de la platina hasta el centro de ésta, donde un termómetro marca el grado de calor.

2.—**Cámara caliente de Ranvier.** (Fig. 17.) Consta de dos cajas de metal que pueden cerrarse herméticamente y en comunicación recíproca por dos tubos de *caoutchouc*. Una de ellas, de forma de caja cuadrilonga, B, se coloca sobre la platina del microscopio y contiene dos cavidades: una parietal en comunicación con el otro receptáculo, y otra central, abierta al exterior y con agujeros para la luz del espejo, el objetivo, la preparación, etc. La segunda caja, A, es una vasija metálica muy sólida, de forma cilíndrica, que puede cerrarse herméticamente con un tape atornillado. Se coloca sobre un porta-embudos donde recibe el calor de una lámpara.

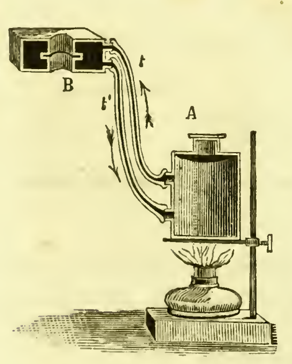


Fig. 17.—Cámara caliente.

Para hacer funcionar el aparato, se unen las dos cajas por los tubos de caoutchouc, se llena la total cavidad de éstas de agua, se cierra herméticamente la caja mayor y se calienta: el líquido ascenderá por el tubo más alto á la caja que rodea la preparación, y de aquí descenderá por otro tubo al depósito, manteniéndose una corriente de agua caliente á temperatura constante todo el tiempo que se desee.

Este aparato es muy útil para reconocer la existencia de movimientos espontáneos en los leucocitos de la sangre del hombre y ma-

míferos. Ordinariamente, se emplean á la vez en estas observaciones la cámara húmeda porta-objetos y la cámara caliente, á fin de mantener los corpúsculos vivientes al abrigo de la sequedad y del frío. No hay que advertir que en los animales de sangre fría como la rana, solamente se utilizará la cámara húmeda.

La cámara caliente de Ranvier y la muy semejante de Israel, no permiten aplicar un condensador Abbe, indispensable, como es sabido, para el examen á grande amplificación. La platina caliente de Loewit, especie de caja muy aplanada, recorrida por tubos de agua caliente, se presta perfectamente á recibir un aparato de iluminación, y es por tanto mucho más práctica. Un perfeccionamiento muy útil para observaciones largas, ha sido propuesto recientemente: añadir á la platina caliente un termo-regulador de membrana de caoutchouc como el que sirve para regular la temperatura en las estufas Arsonval.

Micro-espectroscopio.—Goniómetros.

1.—**El de Sorby.** (Fig. 18.) El más empleado en la actualidad: consiste en un aparato en forma de ocular, que contiene un prisma de visión directa, es decir, compuesto de pequeños prismas de poderes dispersivos notables, pero de tal modo combinados, que no producen desviación en la marcha de los rayos luminosos. Debajo del prisma se aloja una lente (G) que sustituye al ocular, sirviendo para aumentar la imagen amplificada por el objetivo, y más abajo unas láminas horizontales que movidas á favor de un tornillo (a) se aproximan dentro del tubo, dejando entre sí una pequeña rendija para el paso de la luz. En un lado del tubo, y bajo la abertura referida, está sujeto un pequeño prisma (e) de reflexión total, dispuesto de modo que por una de sus caras puede recibir un rayo de luz del exterior y por la otra, orientada hacia arriba,

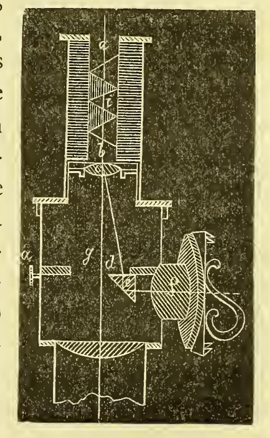


Fig. 18.—Micro-espectroscopio de Sorby.

ocupa la mitad de la longitud de aquel intersticio lineal. Esta disposición es igual á la presentada por los micro-espectroscopios ordinarios, y tiene un fin idéntico, el de permitir al ojo del observador la visión simultánea de dos espectros superpuestos, el procedente de una luz artificial ó del sol, y el producido por la preparación, con el objeto de que puedan compararse.

Para usar el micro-espectroscopio, quítese el ocular del microscopio, sustitúyase por el aparato, enfóquese la preparación y estréchese la rendija, hasta que tenga justamente la anchura del corpúsculo colorado cuyo espectro deseamos analizar. Para comparar el espectro así obtenido con el solar, por ejemplo, hágase caer sobre la carita lateral del prisma inferior un haz luminoso; con lo que percibiremos dos espectros: uno de la preparación, otro de la luz, colocados, para mejor comparación, uno encima del otro.

Con este proceder se descubren en los glóbulos, y en todas las materias coloradas microscópicas, sus bandas de absorción características, pudiéndose efectuar estas observaciones durante la vida de los elementos anatómicos, evitándose con esto los errores que resultan, por descomposición cadavérica del examen de las materias colorantes orgánicas (sangre, bilis, etc.), con el espectroscopio común.

Zeiss construye, según las indicaciones de Abbe, un micro-espectroscopio perfeccionado, al cual ha añadido un tubito lateral provisto de una escala fotografiada destinada á proyectarse en la imagen espectral, y dar la medida de la longitud de onda en cada zona del espectro, así como la posición de las bandas de absorción.

Goniómetros. Existen muchos modelos, pero el más sencillo es el de Schmidt. Consiste en un ocular que hacia abajo se ensancha en un disco cuya circunferencia está dividida en grados y fracciones. A la periferia del ocular (que puede girar sobre el disco) hállanse fijos un nonius y una lente que permite leer las líneas finas de éste. Dentro del ocular se vé un fino hilo atravesando el campo. Para medir un ángulo de un cristal, se coloca uno de sus lados paralelamente al hilo del ocular; luego se mueve éste hasta superponer el hilo al otro lado. La escursión del movimiento giratorio del ocular, legible en el disco graduado por el arco trazado por el nonius, expresará los grados y fracciones del ángulo mensurado.

SECCIÓN SEGUNDA.

REACTIVOS.

CAPÍTULO I.

Consideraciones generales.

Son reactivos histológicos todas aquellas substancias que, obrando sobre los tejidos orgánicos, ya física, ya químicamente, facilitan el descubrimiento de su composición, así como su conservación definitiva.

La importancia de los reactivos en el estudio de la histología es grandísima: puede afirmarse que á su aplicación razonada se deben los brillantes descubrimientos realizados por la moderna histología y el carácter cada día más práctico y positivo de sus conocimientos.

Todo el porvenir de la Anatomía general se funda en el feliz hallazgo de un nuevo método de preparación, ó en el descubrimiento de un reactivo que, actuando selectivamente sobre ciertos detalles de los tejidos, los ponga en evidencia, ya por el contraste del color, ya por lo distinto de su refringencia. La invención de nuevos y más poderosos objetivos no produce á la ciencia los beneficios del más sencillo de los reactivos. El progreso no está en aumentar mucho, en dilatar sin medida la superficie de un corpúsculo, sino en aumentar coloreando y distinguiendo. A este precio sólo son fecundas para la ciencia las maravillosas conquistas de la óptica.

Una de las causas que más han retardado la solución de ciertos problemas de textura, consiste en que los elementos que moran en

una masa orgánica poseen el mismo índice que ésta; de suerte que á pesar de tener unas dimensiones suficientemente crecidas para ser visibles con ordinarios aumentos, pasan desapercibidos para nosotros, como lo es el cristalino en el agua ó una varilla de cristal en el bálsamo del Canadá. En estos especiales casos es donde mejor se muestra la provechosa influencia de los reactivos. Ellos aumentan ó disminuyen el índice de refracción del medio donde habitan los invisibles corpúsculos, revelándolos claramente á nuestros ojos como si un poder creador los sacara de la nada; ellos los distinguen de las partes ambientes tiñéndolos con brillantes matices; ellos por fin los conservan y resguardan de las dañinas influencias del aire y de sus gérmenes.

Demostremos estas excelencias con un ejemplo: Si observamos la córnea fresca de una rana al microscopio no percibiremos en ella casi absolutamente nada. La transparencia absoluta de sus elementos componentes, y la igualdad de los índices de refracción de las células y los medios intercalares nos veda la percepción del menor detalle.

Tratemos ahora la córnea por una solución de nitrato de plata, y con sujeción á las reglas que expondremos más adelante, y veremos con sorpresa diseñarse en su cara anterior una red de líneas negras que figuran un hermoso pavimento; es el cemento que une las células epiteliales, que se ha revelado por la plata, mostrándonos á su vez la existencia de las mismas. Las enseñanzas del reactivo argéntico no cesan aquí; en los puntos en que el epitelio se ha desprendido por azar, y el reactivo ha obrado sobre la capa conjuntiva corneal, aparecen unas células blancas, estelares, anastomosadas, destacando sobre la substancia fundamental teñida de café obscuro; son las famosas células plasmáticas de Virchow y Reclinghausen. Si en lugar de este tratamiento, hubiéramos teñido la córnea con carmín, sometiéndola después al ácido acético, habrían aparecido los núcleos de los corpúsculos corneales coloreados de rojo. Finalmente, sumergiendo la córnea en cloruro de oro y según ciertos procedimientos de reducción que no es del caso exponer aquí, surgirán acá y allá, en medio de las masas corneales, teñidos de violeta obscuro, multitud de filamentos nerviosos, constituyendo redes delicadísimas que irán á terminar en el epitelio.

Todas estas maravillosas disposiciones, verdaderas creaciones debidas á las virtudes secretas de los reactivos, son absolutamente invisibles y refractarias á la aplicación de los más poderosos objetivos.

Aunque cada detalle de estructura puede afirmarse que posee su reactivo específico que lo revela, no se crea por esto que deba formarse el juicio acerca de la composición de un tejido por la exclusiva revelación de un reactivo; es preciso que aquélla sea demostrable por otros métodos y agentes, pues, de no ser así, podría suceder que tomásemos un desorden producido por *el modus operandi,* por la expresión de la naturaleza real del tejido. Estos exclusivismos producen errores lamentables. El empleo de un solo método de preparación condujo á Virchow á su famoso error de las células plasmáticas. Si en lugar de los cortes transversales que practicaba en los tejidos fibrosos hubiera apelado á la observación en el vivo, etc., habría seguramente rectificado su esquema de los corpúsculos plasmáticos. La aplicación exclusiva del cloruro de oro condujo á Gerlach á su famosa concepción errónea de la estructura del músculo y terminaciones nerviosas. La equivocación de Henle con su hipótesis de las fibras de núcleos, y otras mil que pudiéramos citar, son también testimonios elocuentes que nos enseñan cuán fácil es caer en graves errores por causa de ciertos exclusivismos técnicos. Sin embargo, preciso es confesar que en tales fracasos, ha entrado por mucho la idea preconcebida, el partido tomado; porque es muy difícil en frente de la naturaleza deponer nuestra vanidad de legisladores y de filósofos *a priori,* y prescindir de esa impaciencia por la verdad que nos impide esperar sosegadamente los hechos, y nos obliga á forjar hipótesis prematuras y erróneas á falta de reales conocimientos.

No todos los reactivos merecen igual fé en sus enseñanzas, ni todos los métodos de preparación poseen idéntico valor. Los agentes que fijan los elementos sin deformarlos, y los métodos que permiten contemplar vivos los tejidos sin alterarlos, serán siempre dignos de más crédito que aquellos otros que demuestran un detalle á costa de una deformación, ó de una destrucción.

Cuando coinciden las imágenes que nos dan varios y aun opuestos métodos analíticos, cuando las enseñanzas de los unos han sido

criticadas y corregidas por las revelaciones de los otros, podemos asegurar la realidad de la textura entrevista; con mayor razón si ésta es perceptible en los elementos vivos, ó se presenta constantemente en los tejidos homólogos de diversas especies animales.

Finalmente, si la indicación de los reactivos es suficiente ó contradictoria, y ni la observación del tejido en otras especies animales, ni en el desarrollo ontogénico, arrojan luz alguna sobre el problema que trata de resolverse, la cuestión debe quedar en suspenso, hasta que la ciencia no depare el medio que remueva la dificultad, y disipe nuestras dudas. Que es mejor mostrar sinceramente la incógnita esperando que algún hombre perseverante la despeje que no dormirse confiados á la sombra de una hipótesis.

Por las consideraciones anteriores se echa de ver que la histología no es solo ciencia de observación, sino también ciencia experimental; no escucha exclusivamente, sino que interroga y obra; no se contenta como la astronomía, con contemplar ociosa y desarmada el astro desde el ocular del anteojo, al contrario, se apodera del objeto, lo desgarra descomponiéndolo en sus elementos, provoca en ellos reacciones y fenómenos que revelan su personalidad anatómica, induciendo de todos estos datos la composición real de su trama.

CAPÍTULO VI.

Clasificación y enumeración de los reactivos.

Los reactivos histológicos podrían clasificarse por su naturaleza química; pero la adopción de una base tal daría por resultado una clasificación desprovista de toda utilidad. Es preciso acudir á un principio más práctico; por ejemplo, á la acción que ejercen en los tejidos y por la cual son beneficiosos en el análisis histológico.

Con este criterio haremos una clasificación útil, pero poco lógica; porque nos veremos en la necesidad muchas veces de colocar en distintas casillas de la clasificación un mismo agente, pues apenas hay reactivo que no posea dos ó más propiedades utilizables en micrografía. Así, el bicromato de potasa endurece y disocia, según como se aplique y según los tejidos sometidos á su acción; el ácido ósmico fija, colorea y endurece; la glicerina aclara y conserva; el ácido crómico fija, endurece, tiñe, aisla y reblandece, etc.

En tal dificultad, no queda más recurso, á fin de evitar en lo posible ociosas repeticiones, que incluir los reactivos que gozan de dos ó más modos de obrar en el grupo á que pertenezcan, atendiendo á su virtud técnica predominante.

Clasificación de los reactivos.

- **Reactivos histológicos.**
  - Reactivos que disuelven las materias intercelulares.
    - Aisladores.
      - Alcohol al 1/3.
      - Acido nítrico al 1/4.
      - Potasa.
      - Sosa.
      - Acido sulfúrico, etc.
  - Que cambian el índice de refracción de los medios orgánicos.
    - Aclaradores.
      - Acido acético.
      - Esencia de clavo.
      - Id. de trementina.
      - Bálsamo del Canadá, etc.
    - Opacantes.
      - Agua.
      - Alcohol.
      - Aire, etc.
  - Que colorean los elementos histológicos.
    - Colorantes.
      - Por selección é imbibición
        - Carmín.
        - Acido pícrico.
        - Iodo.
        - Purpurina.
        - Kematoxolina.
        - Colores de anilina.
      - Por impregnación.
        - Acido ósmico.
        - Nitrato de plata.
        - Cloruro de oro.
        - Cromato de plata
  - Que actúan modificando la consistencia de los tejidos.
    - Indurantes.
      - Acido crómico.
      - Bicromato de potasa.
      - Alcohol.
      - Bicloruro de mercurio, etc.
    - Ablandantes.
      - Acido hidroclórico.
      - Acido nítrico.
      - Mezcla cromo-nítrica, etc.
  - Que fijan los elementos en su forma normal.
    - Fijadores.
      - Acido ósmico.
      - Licor de Flemming.
      - Licor de Kleinenberg.
      - Alcohol absoluto.
  - Que sirven de vehículos indiferentes ó de simples soportes.
    - Inofensivos.
      - Humor ácueo.
      - *Plasma sanguinis.*
      - Suero artificial de Schultze.
      - Licor de Hayem, etc.
  - Que conservan los elementos.
    - Conservadores
      - Glicerina.
      - Licor de Farrant.
      - Bálsamo del Canadá.
      - Resina damar, etc.

REACTIVOS AISLADORES.

Poseen la virtud de separar los elementos anatómicos, destruyendo ó reblandeciendo la materia insterslicial que los une.

Ejemplo: Si un trozo de músculo de fibra lisa se macera 24 horas en ácido nítrico al tercio, las fibras musculares se separan por sí mismas, nadando en el líquido.

Los reactivos aisladores más usados son los siguientes:

1.—Líquido digestivo artificial de Faibre y Brucke.

Extracto glicerinado de estómago de puerco.. . 1.
Acido clorhídrico disuelto en agua al 2 por 100. 3.

Añádase un cristal de timol para impedir la formación del moho.

El líquido digestivo es un excelente aislador, que permite, por la desigual digestibilidad de los materiales celulares, la separación de ciertas partes, dando mayor claridad á otras.

Hoy se emplea ventajosamente para evidenciar el retículo del protoplasma (que el reactivo respeta) disolviendo la substancia granulosa intercalar.

2.—**La potasa y la sosa.** Son excelentes aisladores de las fibrocélulas, y de casi todos los elementos anatómicos. La potasa especialmente descompone muy bien el músculo cardíaco en sus fibras integrantes, separa la fibra muscular de su inserción tendinosa, aisla las células epiteliales córneas, etc. Para obtener buenos resultados de estos agentes, recomiéndanse soluciones concentradas al 40 por 100, con las que se disuelve la materia intercalar, sin notable alteración de las células. Deben evitarse las soluciones diluídas, pues destruyen los elementos anatómicos.

3.—**Acido sulfúrico.** Es de gran recurso en el aislamiento de los elementos epiteliales, córneos, pelos y uñas. Úsase en caliente y concentrado. M. Schultze lo aplicó también en solución muy diluída (5 gotas en 30 agua) para separar las fibras cristalinas.

4.—**Ácido nítrico.** Es también un buen aislador de las fibrocé-

lulas y de las estriadas. Se aplica en soluciones al 20 por 100, en donde las porciones de tejido permanecerán en maceración de 1 á 3 días. Este reactivo sirvió á Kölliker para su notable descubrimiento de las fibro-células.

5.—**El alcohol al tercio,** es decir, 2 partes de agua por 1 de alcohol de 36°, separan con suma facilidad, mediante una maceración de 24 horas, las células epiteliales de todas clases, y menos eficazmente, las nerviosas y musculares. Sus buenos resultados como aislador los explica Ranvier por la acción distinta y simultánea del agua y del alcohol. El alcohol fija las células en su forma, al paso que las endurece, coagulando las materias proteicas que encierran; mientras que el agua disuelve las substancias intercalares.

El líquido de Schiefferdecker que consta de: agua, 20; glicerina, 10; y alcohol metílico, 1, sustituye en algunos casos ventajosamente (retina sobre todo) al alcohol al tercio.

6.—**El líquido de Müller,** cuya composición se verá más adelante (Indurantes), aprovechado con buen éxito para endurecer la retina, dá excelentes resultados también como aislador de los elementos epiteliales y nerviosos.

7.—**El líquido de Landois,** apropiado para disociar el tejido nervioso, se compone de la mezcla de tres soluciones saturadas: de bicromato amónico neutro, 5; de fosfato potásico, 5; y de sulfato sódico, 8. Añádense 100 partes de agua. En este líquido permanecerán los trozos de centros nerviosos de 3 á 4 días; luego se llevan á una mezcla de picrocarminato y dicho licor, y, por último, se disocian en porta-objetos.

Aclaradores.

Son reactivos que obran sobre los tejidos igualando ó moderando el contraste que existe entre el índice de refracción de los elementos y los medios orgánicos donde se alojan, con lo que la preparación gana en transparencia, y se hacen visibles detalles que de otra manera pasarían desapercibidos.

Para comprender este resultado, recuérdese una sencilla experiencia. El vidrio en polvo es blanco y opaco, á pesar de estar compuesto de una materia transparente; lo que se explica bien dada la

forma angulosa é irregular de sus fragmentos y el gran contraste de refringencias entre el cristal y el aire. Sumérjase en agua el polvo cristalino y se le verá adquirir cierta traslucidez rayana en la transparencia; porque sustituído el aire que separaba los fragmentos por el agua, los rayos sufrirán menos desviación. Por último, trátese el vidrio por el bálsamo del Canadá, y el efecto será notable: los trozos de vidrio parece que han recobrado su posición natural juntándose exactamente, pues que constituyen una masa absolutamente diáfana. En el caso citado del polvo de vidrio en el aire se hallan ciertos elementos, cortes de hueso seco, preparaciones de pulmón, secciones de tejidos opacos, etc.; los que para ser reducidos á una transparencia tal que consienta el estudio de su textura, es preciso tratarlos también por los agentes aclaradores, y entre éstos los más usados son: el ácido acético, la glicerina, las esencias y los bálsamos y resinas.

1.—**Ácido acético.** Se utiliza el ácido acético cristalizable.

Este reactivo se aprovecha en técnica histológica: 1.° Como aclarador. Cuando se echa una gota sobre una preparación de tejido conjuntivo exajera la transparencia de éste, hinchando sus fascículos y revelando las fibras elásticas, elementos refractarios á su acción. 2.° Como aislador. Diluído al 2 por 100 de agua facilita el aislamiento de las fibras musculares, la separación de las glándulas y el estudio de los plexos nerviosos y placas terminales de Rouget.

Pero la acción especial, característica, que domina todas las demás, es la que posee de revelar los núcleos celulares, fijando fuertemente sobre ellos las materias colorantes. Esta acción se debe á que el núcleo, con especialidad el armazón de nucleina, es insoluble en el ácido, en tanto que el protoplasma se disuelve en parte, adquiriendo gran transparencia, y un aspecto gelatinoso. Sin embargo, las partes aparentemente disueltas por el reactivo (los fascículos conectivos y los protoplasmas), tornan á revelarse por las soluciones potásicas y amoniacales; lo que nos prueba que el citado agente induce en los tejidos modificaciones más bien físicas que químicas.

El fenómeno de la sobre-coloración que adquieren los núcleos previamente embebidos en carmín, se explica por algunos, suponiendo que el ácido hincha y dilata los tejidos del preparado, haciéndo-

les perder, por consecuencia, parte del color, mientras que los núcleos, que no sufren distensión alguna, conservan su primitiva intensidad de colorido. A nuestro juicio, el ácido acético no obra de esta suerte, sino que actúa haciendo el protoplasma más permeable al paso de las substancias tintóreas. La sobre-coloración del núcleo se obtiene porque, roto el obstáculo que impedía á aquellas materias alcanzar el núcleo, puede éste libremente fijar sobre sí toda la substancia colorante repartida en los elementos de la preparación poco afines de la misma. Nos sugiere esta idea, el hecho de que la coloración de los núcleos sin el concurso del ácido es tanto más difícil cuanto más espeso y turbio es el protoplasma envolvente. Los núcleos aislados y los apenas revestidos de protoplasma, por ejemplo: los de las células endoteliales, conjuntivas, hematíes nucleados de los batráceos, etc., se tiñen fácilmente por todas las materias colorantes del núcleo sin ayuda de los ácidos. Mas para que, en células no aplanadas, es decir, en células en que el núcleo está rodeado por todas partes de espesa capa protoplasmática, la selección del color se efectúe bien, es preciso el concurso del ácido acético ó clorhídrico, ya mezclado á la fórmula del líquido colorante, ya usado después. Estos efectos son aplicables á las anilinas básicas que obran selectivamente sobre el núcleo, como el verde de metilo, la zafranina y el violeta de dalia, etc.

2.—**Esencia de trementina y de clavo.** Proporcionan gran transparencia á los cortes, con lo que facilitan la percepción de los elementos yacentes en masas orgánicas muy opacas, ó en cortes excesivamente espesos. Obran las citadas materias elevando el índice de refracción del medio orgánico, igualándolo casi al de los corpúsculos del tejido, de donde la extrema diafanidad que éstos adquieren, que es tal, sobre todo cuando se aplica la esencia de clavo, que si no están previamente teñidos los elementos histológicos, es imposible distinguirlos.

La impregnación con las esencias se efectúa previa deshidratación en el alcohol fuerte ó absoluto, y constituye una operación preliminar indispensable á la inclusión de las preparaciones en el bálsamo del Canadá ó en la resina damar.

La *creosota, la esencia de cedro, de bergamota, de orégano, el xilol,* son también buenos aclaradores.

3.—**La glicerina anhidra,** las *soluciones siruposas de azúcar* recomendadas por Beale, y en especial el *bálsamo del Canadá,* son medios que obran de idéntica manera. Mas como, aparte sus cualidades aclaradoras, empléanse especialmente como medios conservadores, el estudio de los mismos tendrá cabida en el capítulo correspondiente.

Opacantes.

Obran al revés de los anteriores, aumentando las diferencias de los índices de refracción entre las células y el medio, y dando por resultado la exageración del contorno de los objetos y consiguiente obscuridad de las preparaciones transparentes. Esta propiedad, común á las substancias de débil índice de refracción, es de sumo provecho para descubrir detalles minuciosos de textura, poco aparentes en los menstruos orgánicos normales y vehículos conservadores. Los opacantes más usados son: el agua, el alcohol y el aire.

1.—**Agua.** Convendrá especialmente como vehículo, á fin de estudiar las partes extremadamente transparentes y delicadas. Así, las placas terminales de Rouget, las fibras de Remak y medulares, las células glanglionares, pestañas vibrátiles, retículum del protoplasma y del núcleo, etc., adquirirán en el agua, cuyo índice es menor que el de los medios interorgánicos, gran corrección de contorno y lujo de pormenores.

Por esta misma propiedad de dar resalte á los objetos transparentes, se utiliza también en la disección de membranas y de órganos excesivamente delicados. La membrana retro-peritoneal, los corazones linfáticos y sanguíneo de la rana, los tubos de Malpigio é intestinal de los insectos, etc., se desprenderán y disecarán bajo el agua con notable ventaja.

Pero la aplicación más importante que se hace del agua en histología, es como disolvente de los demás reactivos colorantes. A este fin se procurará que sea destilada y químicamente pura, pues de poseer substancias orgánicas, precipitaríanse de sus soluciones el ácido ósmico y el nitrato de plata, previa reducción de los mismos.

Por lo demás, no se crea que el agua es un líquido inofensivo. Casi todas las células se alteran en ella profundamente, hinchándose

y descomponiéndose con rapidez. Las hay como los hematíes, que pierden instantáneamente su forma y su color, concluyendo por hacerse invisibles. No obstante, los elementos fijados previamente en alcohol, ácido ósmico, bicromatos, bicloruro de mercurio, etc., soportan bastante bien una larga maceración en dicho líquido.

2.—**El alcohol** puro ó mezclado á dos partes de agua, es también un buen opacante, permitiendo ver claramente los elementos invisibles de la sangre previamente fijados por otros reactivos, y las arborizaciones pálidas terminales del *cilinder axis.*

3.—**El aire,** si la naturaleza del tejido lo consiente, es el mejor medio que puede utilizarse para dar resalte al contorno de los elementos histológicos. Sometiéndolos á la desecación en delgada capa (con lo cual dicho se está que han de estar en parte rodeados de aire), obtiénense preparaciones muy demostrativas de los glóbulos rojos, de los zoospermos y de todas las especies de microbios que viven en líquidos. El aire es también lo que dá á las preparaciones de hueso seco esa belleza incomparable, y esa riqueza de detalles que en vano procuraríamos lograr de ningún procedimiento de coloración.

Reactivos colorantes.

Son los que distinguen por matices más ó menos intensos los elementos anatómicos. Conócense tres especies: 1.° Los que obran tiñendo uniformemente el tejido, ó por simple imbibición. 2.° Los que actúan por afinidad electiva, fijándose en ciertas partes con preferencia á otras. 3.° Los que tiñen por impregnación, es decir, por descomposición (ordinariamente reducción) del reactivo en presencia de ciertos elementos.

De estas tres especies, las más empleadas son las dos últimas. Se comprende perfectamente, que las materias colorantes que obran sin selección son antes perjudiciales que útiles, pues obscurecen las preparaciones sin ganar relieve los detalles. Por esta razón, se reservan para casos muy especiales, para aquellos en que los elementos flotan en un líquido, y es preciso hacerlos destacar fuertemente en él, á fin de observarlos fácilmente, por ejemplo: los micro-organismos del pus, de la sangre y de todos los líquidos patológicos, las células epiteliales pestañosas disociadas, los zoospermos, etc.

Los reactivos colorantes que obran selectivamente tienen más general y provechosa aplicación. De su valor analítico en el estudio de los tejidos es inútil hacer encomios. Todo cuanto en alabanza de los reactivos en otro lugar expusimos, referíase especialmente á los colorantes, á cuya atinada aplicación la histología moderna es deudora de notabilísimos progresos.

Un ejemplo atestiguará claramente su eficacia: Sea un corte de una arteria endurecida por desecación, sometida á la acción del picrocarminato y examinada en la glicerina. Debemos hacer notar que si el tejido hubiera sido observado antes de la acción del agente tintóreo, la más escrupulosa atención á duras penas hubiera podido darnos cuenta de la naturaleza del sujeto del examen, cuya confusión é intrincamiento extructural desafían, por decirlo así, toda tentativa de análisis. Mas después de la acción del reactivo, el conjunto se aclara, los detalles parece que se clasifican por sí solos, alineándose metódicamente y ostentando cada uno su característica divisa como para identificar su personalidad. Las fibras elásticas se nos dan á conocer por su color amarillento puro sin mezcla de carmín, formando vistosas redes en la túnica externa de la arteria. El tejido conjuntivo se revela por su color rosa pálido, sin mezcla de amarillo, pues así como la fibra elástica rechaza el carmín, la conjuntiva repugna el ácido pícrico. Las fibras musculares lisas, que constituyen en las pequeñas arterias casi toda la túnica media, se ostentan de un hermoso naranja; su protoplasma posee afinidad tanto para la una como para la otra substancia tintórea, de lo que resulta un color intermedio. Finalmente, agregando al preparado una gota de ácido acético se exaltan esas misteriosas selecciones, y surgen vivamente teñidos los núcleos conjuntivos y fibro-celulares antes eclipsados.

Agentes que tiñen por selección é imbibición.

1.—**Carmín.** Aplicado á la micrografía por Gerlach, es hoy el más usado de todos los agentes colorantes. Su especialidad de acción, consiste en teñir de rojo los núcleos celulares, el cilindro eje de los tubos nerviosos y, menos intensamente, los protoplasmas jóvenes y fascículos del tejido conjuntivo.

Los nucleolos celulares y las gotitas de *eleidina* de la capa granulosa de la piel, tienen el privilegio de teñirse más intensamente que todas las demás partes. Por el contrario, repúgnanlo las células epiteliales viejas, las fibras elásticas, la mielina, y en general, las substancias grasientas y las materias amorfas. Esta selección del carmín por ciertos elementos se refuerza sobremanera después de la acción del ácido acético.

Empléase el carmín disuelto en agua que lleve una pequeña cantidad de amoniaco. Cuanto menos amoniacal es la solución más completamente se verifica la selección del carmín por los núcleos ó nucleolos.

Hé aquí algunas fórmulas muy usadas:

a.—*Carmín de Beale.*

Carmín laca.	10	granos.
Amoniaco fuerte.	1/2	dracma.
Glicerina.	2	onzas.
Alcohol..	1/2	onza.

b.—*Fórmula de Thiersch.*

Carmín.	1
Amoniaco.	1
Agua destilada.	3

Fíltrese y añádase una parte de este líquido á 8 de solución de ácido oxálico al 1 por 22, y á 12 de alcohol absoluto.

c.—*Picro-carminato amoniacal.* Substancia propuesta por Ranvier en que se combinan el ácido pícrico y el carmín para constituir una substancia soluble llamada picro-carminato de amoniaco. Hé aquí cómo se prepara según su autor: «Se vierte en una solución saturada de ácido pícrico carmín disuelto en amoniaco hasta saturación; después se evapora en una estufa. Cuando esté reducido el líquido á los cuatro quintos, el licor enfriado abandona un depósito poco rico en carmín, que se debe separar por filtración. Las aguas madres evaporadas dan el picro-carminato sólido bajo la forma de un polvo cristalino de color rojo de ocre. Este polvo debe disolverse por completo en agua destilada. La solución más conveniente es 1 de picro-carminato y 100 de agua.»

Por si esta fórmula pareciera poco precisa, daremos aquí la de Babes, que ha determinado cuidadosamente las cantidades para evitar todo error:

Carmín laca.	1	gramo.
Amoniaco líquido.	4	»
Agua.	200	»
Añádase ácido pícrico. . . .	5	»

Disuélvase el todo, fíltrese después, y déjese cristalizar. Se usa diluído en agua al 2 por 100.

La boga de que goza este reactivo es merecida, y se debe, en gran parte, á las ventajas de la doble coloración. El picro-carminato en presencia de los tejidos se desdobla: el carmín se fija en los núcleos, en los cilindro-ejes, fascículos conjuntivos, etc.; el pícrico tiñe exclusivamente los protoplasmas, las fibras elásticas y el tejido córneo; donde los elementos poseen afinidad por ambos, por ejemplo, en las fibras musculares, adquieren una coloración naranja.

d.—*Carmín aluminoso* (Grenacher). Hiérvanse 2 gramos de carmín, por 20 minutos, en 100^{cc} de una disolución de alumbre al 5 por 100, y fíltrese cuando esté frío el líquido. Para que este carmín tiña con alguna fuerza, es preciso que la ebullición reduzca el líquido á la mitad.

Colorea bien los cortes de piezas induradas en alcohol, ó bicromato de potasa. Las piezas fijadas en las mezclas ósmicas tales como los líquidos de Flemming, Fol, etc., se coloran difícilmente. El color, que es rojo morado, se fija casi exclusivamente sobre el armazón cromático, y figuras kariokineticas. El tejido conectivo adquiere un ligero matiz purpúreo.

e.—*Cochinilla de Czokor.*

Cochinilla en polvo.	7
Alumbre calcinado.	7
Agua.	700

Se hierve hasta reducción á la mitad. Después de filtrado, se obtiene un líquido violeta purpúreo que colora los núcleos en violáceo tras varias horas de acción. Como el carmín de Grenacher, este

reactivo posee la ventaja de no sobrecolorar nunca ni exigir la acción ulterior de ácidos.

1.—**Carmines alcalinos.** La solución de carmín en carbonato de litina ó borato de sosa, proporciona líquidos de gran fuerza tintórea, pero exentos de selección. Mas si los cortes, una vez teñidos difusamente, se sumergen por 1 ó 2 minutos en el clorhidrato de alcohol (ácido clorhidrato, 1; alcohol de 36°, 100), el exceso de tinta se disuelve y el carmín se fija con energía en los núcleos. Las fórmulas más usadas son:

Carmín de Orth.

Carmín laca.	2,5
Solución saturada acuosa, de carbonato de litina.	100

Los cortes permanecerán en el líquido de 5 á 30 minutos; después se les trata por el *clorhidrato de alcohol;* se lavan en mucha agua, y quedan listos para ser conservados en glicerina ó bálsamo.

Carmín borácico.

Carmín.	0,5
Borax.	2
Agua.	100

Coloración de media á una hora. Igual tratamiento que en la fórmula anterior.

La ventaja más notable de los carmines alcalinos estriba en su gran fuerza tintórea. Hasta los cortes de piezas induradas en ácido crómico, ósmico, etc., se tiñen bien. Cuando la decoloración con el clorhidrato de alcohol se exagera, solamente quedan impregnados los núcleos; lo que permite dar una coloración de fondo al tejido conectivo, epitelios, etc., ya con el ácido pícrico, ya con el carmín de Indigo. Al efecto, puede servir también la hematoxilina nueva exenta de poder selectivo nuclear.

2.—**Hematoxilina.** Substancia colorante extraída del palo de campeche, propuesta por Bœhmer para colorear los tejidos: se fija especialmente en los núcleos celulares, en los capilares de los centros nerviosos, la materia birefringente de los músculos, las terminaciones nerviosas del órgano eléctrico del torpedo, los tejidos epitelia-

les, etc. Flemming lo emplea para el estudio del retículum en la *karyokinesis*.

El modo de preparación aconsejado por Ranvier, es el siguiente:

A	Hematoxilina.	0,35
	Alcohol absoluto.	10
B	Alumbre.	0,10
	Agua destilada.	30

Se vierte la solución A en la B, con cuya mezcla el líquido, que era rojo café, adquiere un hermoso color violeta.

Purser aconseja la fórmula siguiente: Hágase infusión, por cuatro ó seis horas, de palo de campeche en diez veces su peso de agua. La solución, que ofrecerá un matiz rojo cobrizo, será filtrada, y se la añadirá otra de alumbre al medio por ciento, hasta que el color rojo sucio se trueque en hermoso rojo purpúreo. Antes de usarla, convendrá, con el objeto de que la coloración se obscurezca, abandonarla en un vaso destapado, añadiéndola, para evitar el moho, una pequeña cantidad de alcohol.

Hematoxilina de Ehrlich.

Hematoxilina.	2
Alcohol absoluto.	100
Glicerina.	100
Agua..	100
Alumbre (en exceso).	

Se abandona á la luz hasta que adquiera color rojo. Entonces resulta bastante estable y tiñe bien los núcleos.

Hematoxilina de Delafield.

Alumbre amoniacal á saturación. . . .	400
Hematoxilina.	4
Alcohol.	25
Glicerina.	100
Alcohol amílico.	100

Se comienza por disolver la hematoxilina en los 25 gramos de alcohol; añádese luego el agua aluminosa. Consérvase destapado el frasco de la solución durante 3 ó 4 días, y se agrega la glicerina y el alcohol.

Es bastante selectiva sobre los núcleos.

Hematoxilina de Heidenhain. Las piezas induradas en alcohol ó en ácido pícrico, se sumergen por 24 horas en solución acuosa simple de hematoxilina (al 0,33 por 100); luego se llevan á una solución al 0,50 por 100 de cromato amarillo de potasa, donde permanecen por 12 ó 24 horas. Las piezas se engloban en parafina y los cortes muestran los núcleos teñidos de gris azulado.

Este método de teñido conviene especialmente á los epitelios y glándulas.

Hematoxilina de Herxheimer.

Hematoxilina.	1	
Alcohol fuerte..	20	cen. cub.
Agua destilada..	20	id.
Carbonato de litina á saturación en agua..	1	

Los cortes de piezas induradas en líquido de Müller, alcohol, ácido pícrico, etc., se colocan en dicho líquido desde 5 minutos á 1 hora; después se sumergen, durante 30 ó 40 segundos, en la solución oficinal de percloruro de hierro.

Esta fórmula es excelente para teñir las fibras elásticas, que impregna de azul negruzco, decolorándose casi todo lo demás. Debe cuidarse no dejar mucho tiempo los cortes en el percloruro, pues todo palidecería. Tras un lavado en agua, se montan los cortes en el bálsamo.

Hematoxilina de Weigert para la coloración de la mielina. Los cortes de centros nerviosos, previamente indurados en bicromato de potasa é incluídos en celoidina, se sumergen por 1 ó 2 horas (en estufa) en la solución siguiente:

Hematoxilina..	0,75
Alcohol.	10
Agua..	90
Solución saturada de carbonato de litina.	1

Weigert aconsejaba trasladar después los cortes á esta solución decolorante: ferricianuro de potasa 2,5; borax, 2; agua, 200. Pero más recientemente, Pal ha propuesto una modificación ventajosa que consiste en sustituir este baño decolorante por otros dos. En

el 1.º, compuesto de hipermanganato potásico disuelto en agua al 0,25 por 100, deben permanecer los cortes de 1 minuto á 2; y en el 2.º, que consta de sulfuro de potasio, 1; ácido oxálico, 1; agua 200, se abandonarán hasta que todo, menos la mielina, se decolore.

Las preparaciones obtenidas son espléndidas, tiñéndose la mielina en azul negro. Mediante el litio-carmín, ó carmín aluminoso, puede darse todavía una bella coloración nuclear roja. La conservación en bálsamo del Canadá.

Las fórmulas de hematoxilina aluminosa tiñen muy bien y muy rápidamente los núcleos celulares, especialmente el armazón cromático y las figuras kariokinéticas. En menos de dos minutos se obtienen á veces hermosas impregnaciones violadas, por lo cual conviene singularmente este reactivo para el teñido en porta-objetos. Pero desgraciadamente todas las fórmulas exigen un cierto tiempo (imposible de fijar de antemano) para madurar, antes y después del cual no puede obtenerse selección nuclear bien neta. Además, tarde ó temprano, la hematoxilina precipita, haciéndose insoluble después de haber adquirido un color rojo-moreno.

Recientes investigaciones han puesto en claro que la madurez de las soluciones de *hematoxilina* depende de la transformación, en presencia del oxígeno del aire, de dicha substancia en *hemateina*.

Unna (1), que ha estudiado á fondo estas transformaciones, ha encontrado un medio que permite preparar ya madura la solución de hematoxilina. Añade una pequeña cantidad de solución de hematoxilina en alcohol á un soluto de alumbre en agua. En un pocillo de porcelana neutraliza con sosa cierta cantidad de H_2O_2; mezcla este líquido con el anterior, y calienta el todo á la lámpara de alcohol. En el líquido obtenido, de color rojo azulado, los cortes se tiñen rápidamente. No se conserva, por lo cual debe prepararse de reciente.

Otra fórmula de Unna, que se conserva mejor, es:

Hematoxilina..	1
Alumbre.	10
Alcohol.	100
Agua destilada.	200
Azufre sublimado. . . .	2

(1) *Unna:* Ueber die Reifung unserer Farbstoffe. *Zeitschriff. f. wissenschafliche Mikroskopic, &.* Bd. VIII, Helf. 4, 1892.

P. Mayer (1) atribuye la madurez de la solución de hematoxilina á la producción, en presencia del amoniaco del aire, de un *compuesto amoniacal de hemateina,* y propone la siguiente fórmula que posee *ab initio* las propiedades de la hematoxilina madura:

A	Hemateina amoniacal. .	1	Disuélvase al calor.
	Alcohol al 90 %. . .	50	
B	Alumbre.	50	
	Agua destilada. . . .	1.000	

Mézclense ambos líquidos, déjese enfriar y reposar la mezcla y decántese la parte clara de la solución. En este color se tiñen los cortes tan rápidamente como en la buena solución de Böhmer. El teñido en masa de piezas medianamente voluminosas se obtiene en 24 horas.

La *hemateina amoniacal* puede prepararse disolviendo en caliente 1 gramo de hematoxilina en 20 de agua destilada, y añadiendo á la solución un cent. cúb. de amoniaco cáustico (peso esp. 0'875). Se evapora el líquido en cubeta, y el polvo resultante es la *hemateina amoniacal.*

Con la mira de disfrutar las ventajas de las dobles coloraciones, la hematoxilina puede asociarse al carmín; pero los mejores resultados se obtienen uniéndola á la eosina. Las preparaciones se conservarán en el bálsamo ó en la glicerina.

3.—**Purpurina.** (Ranvier.) Substancia color ocre rojo, que se extrae de la rubia.

Su especialidad de acción consiste en teñir los núcleos, particularmente los de las células cartilaginosas y de las células óseas, el cartílago de osificación, etc.

Se prepara disolviendo 1 gramo de alumbre en agua destilada. En esta disolución, calentada hasta la ebullición en una cápsula de porcelana, se echan unos 30 centigramos de purpurina previamente mezclada con un poco de agua. La purpurina se disolverá inmediatamente, dando al líquido un color naranja rojizo.

4.—**Azul de quinoleina.** Reactivo cuya virtud es colorear de

(1) *P. Mayer:* Ueber das Farben mit Hamatoxylin. *(Mitlheil. a. d. Zool. Station zu Neapel. Bd., X, 1891.)*

azul las grasas, la mielina, etc. Se usan soluciones alcohólicas muy diluídas. La selección por las grasas se determina después que la preparación ha sido tratada por una solución de potasa.

5.—**Iodo.** Dá á los protoplasmas un color amarillo moreno, por el cual se distinguen más claramente de las materias intercelulares. Pero su destino particular es revelar la presencia de la materia glicógena y la amiloidea. Esta se colorea en rojo sucio por el reactivo, al paso que aquélla necesita del concurso del ácido sulfúrico para teñirse de violeta.

Empléase ordinariamente bajo dos formas: 1.ª solución saturada en un líquido que contenga un 2 por 100 de ioduro de potasio, y 2.ª suero iodado, consistente en el líquido amniótico de los animales, en el cual se han disuelto algunas pajuelas de iodo puro.

6.—**Ácido pícrico.** Se emplea en soluciones saturadas. Sirve principalmente para colorear de amarillo la fibras elásticas y el epidermis córneo. Tiñe con menor intensidad todos los tejidos musculares y epiteliales.

Puede aprovecharse también como indurante y ablandante, ó decalcificador; mas no posee estas cualidades en tan alto grado como el ácido crómico.

7.—**Azul de anilina.** Existen dos especies, un azul soluble en alcohol é insoluble en agua y otro soluble en este líquido.

La primera es la que se emplea en micrografía. En solución alcohólica sirve para colorear los canalículos óseos según un procedimiento especial descrito por Ranvier; precipitada se usa para hacer inyecciones en los sacos linfáticos de la rana, demostrando según la experiencia de Chonheim, la diapedesis de los leucocitos; se aprovecha también para colorear las células epiteliales con pestañas, etcétera.

8.—**Eosina.** (Fischer.) Conocida en el comercio bajo el nombre de primerosa, es una sal de potasa y de una ptaleina bromada, introducida en los estudios micrográficos por Fischer y Renaut. Se emplean soluciones alcohólicas ó acuosas muy débiles, que se distinguen por un bello color rojo anaranjado dicróico.

Colorea la eosina casi todos los protoplasmas celulares, respetando los núcleos, aunque no todos, pues los de las células endoteliales, los nerviosos y los conjuntivos se tiñen perfectamente. Tí-

ñense en rojo vivo las fibras elásticas, la materia contráctil de los músculos y los hematíes.

Ehrlich ha demostrado que la eosina tiene particular afinidad por ciertas granulaciones de las células blancas de la sangre, muy abundantes en la leucemia, cuyas células, por razón de la expresada selección, se las ha llamado *células eosinófilas*. Para investigar estos corpúsculos, se deseca primero la sangre en delgada capa sobre un cubre-objetos, se coloreán los leucocitos durante algunas horas en una solución glicerinada de eosina, se lavan con agua, se vuelven á secar, y por último se encierran en el bálsamo del Canadá.

Se emplea comunmente la eosina asociada á la hematoxilina según aconseja Renaut. Nosotros la hemos usado con buen éxito unida al verde de metilo. Pero desgraciadamente las preparaciones eosinadas no se conservan íntegras mucho tiempo, pues este reactivo se disuelve en casi todos los vehículos conservadores. La conservación en la glicerina exige la saturación de ésta con la materia tintórea para no perder las ventajas de la selección.

9.—**Violeta de dalia.** Posee una singular propiedad selectiva descubierta por Ehrlich, la de fijarse en las células conectivas perivasculares, células del plasma de Waldeyer, y no en las ordinarias, coloreándose en violeta intenso el protoplasma, en tanto que el núcleo permanece casi incoloro.

La fórmula aconsejada por Ehrlich es: Alcohol absoluto, 50 c. c.; ácido acético, 12; violeta de dalia, c. s., para que el líquido adquiera un fuerte color violeta. Las preparaciones se tiñen primero intensamente en este líquido, por 24 horas, y se decoloran después en agua alcoholizada. El violeta, que por igual impregnaba el tejido, se conserva sólo, por virtud de este tratamiento, en las células perivasculares.

Nosotros usamos una solución compuesta de:

Violeta de dalia.	0'5
Agua.	100
Ácido acético..	2

Este líquido tiñe admirablemente los núcleos de todas las células, fijándose especialmente, con un matiz violeta azulado, en el armazón de nucleina, y con un violado rojizo menos intenso en la

substancia interfibrilar. Reemplaza en el estudio de la textura celular al verde de metilo, que también posee aquellas propiedades.

10.—**Fuchina** *(clorhidrato de rosanilina)*. Materia colorante roja que tiñe instantáneamente todos los tejidos, sin demostrar selección determinada. Sin embargo, Ebner afirma que colorea más especialmente las fibras elásticas, las células glandulares y las nerviosas. Tiñe las pestañas vibrátiles y los leucocitos, sin paralizar los movimientos.

La fórmula es:

Fuchina cristalizada.. . . .	1 centigramo.
Alcohol.	25 gotas.
Agua destilada.	15 gramos.

Fuchina ácida. Substancia que tiene gran selección sobre los núcleos, aun en las preparaciones fijadas en ácido ósmico ó sobreinduradas en la mezcla de Flemming. Se usa disuelta en agua á saturación. Los cortes se decoloran en alcohol (véase Zafranina).

Entra la fuchina ácida en el licor de Biondi, compuesto de

Fuchina ácida en solución saturada. . .			20
Verde de metilo	id.	id. . . .	50
Naranja (Orange)	id.	id. . . .	100

Antes de usar este licor se diluye en 100 partes de agua y se añade ácido acético hasta que se torne de un color rojo fuerte. La aplicación se hace en porta-objetos, sobre cortes á la parafina, procedentes de piezas fijadas primeramente en sublimado á saturación y, ulteriormente, en alcohol.

11.—**Sulfato de rosanilina** (Rojo de Magenta).—Se emplea en soluciones acuosas débiles. Posee la propiedad de colorear la membrana de los hematíes (Duval) y de fijarse en la mayor parte de los micro-organismos, bacterias, vibriones, etc.

12.—**Verde de metylo.** Materia colorante aplicada por Calberla (1877) á los estudios micrográficos y muy usada para colorear el retículo nuclear de las células vegetales y de los insectos y batracios.

Strassburger emplea la solución siguiente:

Solución acuosa concentrada de verde de metylo. .	100
Acido acético cristalizable.	1

Nosotros agregamos á la solución citada una mitad de su volumen de alcohol de 40°, con lo cual el retículum se dibuja con más claridad por causa de la débil refringencia del líquido, y el protoplasma se fija en su forma sin retraerse. Esta modificación de la fórmula es en extremo conveniente en el estudio de los corpúsculos blancos de la sangre y en los elementos conjuntivos y epiteliales. Los núcleos coloreados con el verde de metylo tienen bellísimo aspecto y demuestran con singular claridad el armazón cromático, única parte del núcleo en que el reactivo se fija; mas por desgracia los líquidos conservadores concluyen siempre por alterar la coloración.

13.—**Zafranina** (Flemming). Otra materia derivada de las anilinas, que colorea de rojo claro el retículum del núcleo, en especial durante la *karyokinesis*. La induración del preparado en el ácido crómico no impide la coloración. La zafranina, según nuestras observaciones, colorea el núcleo de los hematoblastos ó glóbulos rojos jóvenes de la rana, sin colorear ni el de los rojos adultos, ni el de los blancos; mas tiñe por igual el plasma nuclear y el filamento, á la manera del carmín, así que no tiene las ventajas del verde de metylo. La solución usada es:

Zafranina.	1
Alcohol.	100
Agua.	300

Los cortes se abandonan 10 á 30 minutos en este líquido y se decoloran después en alcohol. El aclaramiento debe hacerse con xilol ó bergamota, pues la esencia de clavo disolvería el color.

La zafranina tiñe perfectamente las figuras cromáticas de la karyokinesis; colora también en naranja la materia fundamental del cartílago, y finalmente, en los cortes de piezas induradas en ácido crómico, tiñe en rojo-negro ó azulado las fibras elásticas. Esta última propiedad sirve de base al llamado *método de Martinotti*.

Este método consiste en indurar los tejidos primeramente en una solución de ácido crómico al 0'2 por 1.000, y después en alcohol fuerte. Los cortes se dejan por 24 horas en

Zafranina (marca —o).	5
Alcohol.	100
Agua..	100

La decoloración debe hacerse en alcohol que contenga 1 por 100 de ácido clorhídrico.

Ferria afirma que las piezas induradas solamente en alcohol dan también la reacción, si se conservan durante 5 horas en ácido crómico al 1 por 100.

Azul de metylo. Tiñe, por el método de la sobrecoloración y decoloración al alcohol, los núcleos tan bien como la zafranina, vesubina, etc. Pero su propiedad más notable, descubierta por Ehrlich, consiste en colorar durante la vida los cilindros-ejes y terminaciones nerviosas. Al efecto, Dogiel, lubrifica las partes nerviosas con la solución

Azul de metylo.	0,3
Agua destilada.	100
Sal común.	0,75

Después de media, una ó más horas de acción, en presencia del aire y en cámara húmeda, los cilindros-ejes se tiñen en azul fuerte, resaltando sobre fondo incoloro ó apenas teñido. La coloración se desvanece en cuanto mueren los elementos; por lo cual, los autores han procurado fijar las preparaciones con diferentes reactivos. Los que mejores (aunque no completos) resultados dan, son: el picrocarminato y el picrato-amónico en solución saturada (Dogiel).

La reacción vital del azul de metileno se ha aplicado con buen éxito por Dogiel á la retina, y por Retzius al sistema ganglionar de los crustáceos, vermes y vertebrados inferiores. Digamos finalmente, que contribuye mucho al buen éxito la especie de azul utilizado. La marca BB, es la más recomendable, y aún es más seguro usar la solución preparada por Grübler de Leipzig, especialista en reactivos micrográficos (1).

14.—**Violeta de metylo** (Jürgens). Se emplea disuelto al 1 por 100 de agua. Tiñe los núcleos y las substancias córneas. Se ha aplicado á la impregnación de los *bacillus* de la tuberculosis, y en general, en las investigaciones micróbicas.

15.—**Violado de anilina.** Substancia de gran potencia colorante, la cual, unida al ácido acético, tiñe, casi tan bien como el dalia, el

(1) Dr. Georg. Grübler, Bayersche Strasse, 12, Leipzig.

filamento de nucleina, y menos intensamente, el protoplasma. Tiene particular afinidad, además de los núcleos, para con todos los micrófitos.

16.—Moreno Bismarck (Bismarckbraun). Propuesto por Weigert. Colorea, en solución acuosa concentrada, los núcleos, dándoles un matiz pardo agradable. El método de teñido es el citado para la zafranina, del cual daremos detalles más adelante; consiste en sobrecolorear primero y decolorear después en alcohol. Todo se destiñe menos la cromatina.

AGENTES QUE COLOREAN POR IMPREGNACIÓN.

Son tres: el nitrato de plata, el ácido ósmico y el cloruro de oro.

1.—**Nitrato de plata.** Su especialidad colorante consiste en ennegrecer todas las substancias amorfas ó intercalares, por ejemplo: la materia viscosa que separa las células epiteliales, la substancia fundamental de cartílago, tejido conjuntivo, córnea, el cemento de unión de los segmentos nerviosos interanulares, etc.

Al revés que el carmín, que tiene afinidad para con la materia viva, el nitrato de plata se fija sobre las materias muertas, es decir, sobre la parte esqueletífera del organismo. Es probable que estas substancias abunden de albúmina y de cloruro sódico, y el nitrato de plata, puesto en conflicto con dichas materias, forme cloruro y albuminato de plata reductibles, como es sabido, á la acción de la luz, del propio modo que el papel albuminado fotográfico.

Para proceder á la aplicación del nitrato de plata sobre un tejido, es condición precisa que éste sea transparente y recién extraído del animal. La córnea, el mesenterio y la vejiga de la rana ó del conejo ofrecen excelentes condiciones al efecto. La impregnación comprende cuatro operaciones: 1.ª Extensión de la membrana sobre un cristal y lavado al agua destilada durante breves instantes. 2.ª Irrigación del preparado con una solución de nitrato de plata cristalizado al 1/500 ó 300, maniobra que se prolongará por uno ó dos minutos, hasta que el objeto tome un aspecto lechoso. 3.ª Lavado al agua destilada para expurgar la preparación de los precipitados irregulares que se formen durante la acción del nitrato, así

como para quitar el exceso de reactivo. 4.ª Inclusión de la preparación en la glicerina, bajo la que será expuesta á la luz solar si es posible, hasta que el aspecto opalino de la preparación se trueque por un ligero sépia.

Una vez solarizadas, pueden estas preparaciones colorearse al picro-carminato ó á la hematoxilina, con tal que permanezcan durante el suficiente tiempo en contacto con estos agentes, pues que las afinidades colorantes de las células disminuyen notablemente en los tejidos argentados.

Las imágenes obtenidas por la plata se llaman negativas, porque las células aparecen en blanco sobre fondo ó contorno negro, al revés del cloruro de oro que dá imágenes positivas.

Según resulta de nuestras observaciones, el ácido acético, en pequeña cantidad añadido á una solución argéntica, favorece la acción de ésta, dando mayor regularidad y corrección á la impregnación. Esta fórmula de nitrato á que nosotros dimos el nombre de aceto-nitrato de plata, tiene especial aplicación á la coloración de los tubos nerviosos y de las arborizaciones nerviosas terminales de los músculos estriados del lagarto y de la rana. Con el nitrato ordinario, las imágenes de las terminaciones resultan incompletas y confusas, á causa de que el reactivo contornea y reserva por igual las fibras nerviosas, las células conjuntivas y capilares; mas con la adición del ácido acético, y, aún mejor, tratando las fibras musculares antes de la acción de la plata con el ácido acético al tercio (2 partes de agua y una de ácido), los corpúsculos conectivos pierden la propiedad de impregnarse y dejan pasar libremente el reactivo argéntico que actúa con toda libertad sobre la fibra muscular, consiguiéndose, por consecuencia, una completa impregnación negativa de las terminaciones nerviosas.

Cuando la impregnación es demasiado débil, y esto sucede con frecuencia en la placa de Rouget y demás terminaciones nerviosas, se la puede reforzar lo mismo que las imágenes fotográficas; de esta suerte se obtienen excelentes preparados para la microfotografía. El refuerzo puede hacerse de dos modos: 1.ª Cubriendo el objeto nitratado por una nueva solución argéntica, y exponiéndolo luego á la luz; y 2.ª Tratando la preparación por el cloruro de oro al 1 por 100. En este último líquido, las piezas nitratadas adquieren un

matiz blanco verdoso, que no tarda en obscurecerse á la luz solar, determinándose una impregnación de extraordinaria energía. Estas pruebas se fijan, lo mismo que las negativas fotográficas, en soluciones de hiposulfito de sosa, lavándose después, á fin de arrastrar el hiposulfito, en gran cantidad de agua.

Aunque, por punto general, son negativas las imágenes argénticas, lógranse también, colocándose en ciertas particulares condiciones pruebas positivas. Así, Ranvier ha demostrado, que tratando las células corneales por el nitrato de plata, y macerando la preparación por unos días en agua destilada, la impregnación obtenida resulta positiva, destacando los corpúsculos obscuros y granulosos sobre fondo claro. En el estudio de las terminaciones nerviosas, un resultado semejante hemos conseguido nosotros del nitrato de plata alcalino (solución argéntica con algunas gotas de amoniaco); las fibras de la arborización se dibujaban en pardo sobre fondo incoloro, constituído por el hacecillo muscular.

2.—**Ácido ósmico.** Agente colorante enérgico, indicado en 1865 por E. Schültze, y de gran utilidad en los estudios histológicos.

Se presenta el ácido ósmico bajo la forma de cristales de un color verde claro, que exhalan cuando libres fuertes vapores corrosivos. Es tan volátil, que obliga, para conservarlo en estado de pureza, á encerrarlo en tubitos de cristal fundidos por ambos extremos á la lámpara. A fin de librarse de los vapores irritantes del osmio durante las maniobras de preparación y disociación de las piezas anatómicas osmiadas, convendrá trabajar bajo una gran lámina de cristal que intercepte la marcha de los vapores, que por cierto producen vivas oftalmías. Por lo demás, las conjuntivitis ósmicas duran cuando más dos ó tres días, y no ocasionan grande incomodidad.

El ácido ósmico es fijador y colorante. Su especialidad de acción consiste en teñir de negro de tinta china las materias grasientas, la mielina, etc., denunciando las más delicadas gotitas de grasa del interior de las células, y diferenciándolas claramente del núcleo y nucleolos refractarios al reactivo.

La solución empleada es:

Agua destilada.	100
Acido ósmico.	1

En ella deben permanecer los tejidos según su espesor, desde algunos minutos á una ó dos horas.

Obtenida la impregnación, no hay inconveniente en someter después la preparación á la acción del carmín ó de la hematoxilina, en cuyos reactivos permanecerá lo menos 24 ó 48 horas, para que adquieran una buena coloración; porque el osmio como los demás agentes impregnantes, disminuye notablemente las afinidades colorantes de los tejidos.

3.—**Cloruro de oro** (Gerlach). A semejanza del ac. ósmico, redúcese también en las materias grasas, particularmente en la mielina; pero posee una acción selectiva especial sobre los cilindros ejes nerviosos y sus más delicadas ramificaciones, partes que tiñe de un color violeta intensísimo. Poca afinidad tiene el oro por los epitelios, los músculos y el tejido conectivo, por lo cual la investigación de los nervios de estas partes, resulta relativamente fácil. Pero donde el reactivo es verdaderamente precioso é irreemplazable, es en el estudio de las terminaciones nerviosas ya sensitivas, ya motrices. A él solo somos deudores del conocimiento de las redes nerviosas terminales del cuerpo de Malpigio, de las del epitelio corneal, las de los músculos lisos, de la estructura de los centros cerebro-medulares, etc. Hoy tienen, no obstante, estos estudios un auxiliar poderoso en dos métodos: el de Ehrlich al azul de metileno, y el de Golgi, al cromato de plata.

Pero la acción del cloruro de oro es harto inconstante, por lo que cada autor ha trabajado en la averiguación de un método seguro y aplicable á la mayor parte de los casos. Y preciso es confesar que hasta la fecha este *desideratum* no ha sido realizado por nadie, sin duda porque no se han determinado de un modo absoluto todas las condiciones concurrentes en una buena impregnación.

Hé aquí las fórmulas más usadas:

a.—*Cohnheim.*—	Agua destilada.	100
	Cloruro de oro.	2

Sumérjase durante un cuarto de hora el tejido en esta solución; llévese después á una copa que contenga agua con algunas gotas de ácido acético, y expóngase á la luz solar en este líquido, hasta que la preparación adquiera un tono violeta obscuro.

b.—*Henoche.*—Sumersión, durante una hora, del tejido en cloruro de oro al 1 por 100, y reducción después en una solución de ácido tartárico que se mantendrá á una temperatura de 30° á 70° ó más grados.

c.—*Loewit.*—Acción sobre el preparado: 1.° de ácido fórmico al tercio durante un minuto; 2.° de una solución de cloruro de oro al 1 por 100 durante un cuarto de hora, y 3.° de ácido fórmico puro por 24 horas. Al cabo de este tiempo, el tejido aparecerá coloreado de amarillo en la superficie y de violeta en el centro; se elegirá una zona de transición entre esas dos, pues solo en ella están impregnadas las fibras nerviosas.

d.—*Ranvier.*—1.° sumersión del tejido (córnea, piel) en jugo de limón fresco por 5 minutos; 2.° lavado al agua destilada; 3.° coloración al cloruro de oro al 1 por 100 durante un cuarto de hora, y 4.° reducción á la luz por algunas horas en agua acetificada.

En la preparación de las terminaciones nerviosas de los músculos, corazón, etc., emplea este histólogo también otro procedimiento: junta una parte de ácido fórmico á cuatro de una solución al 1 por 100 de cloruro de oro y somete la mezcla á la ebullición. Al enfriarse, sumerje en ella, frescos aún, los trozos de tejido que se desean impregnar; después de 20 minutos de sumersión, se lavan ligeramente y se abandonan á la reducción por 24 horas en una solución de ácido fórmico al 20 por 100.

e.—*Método de Bremer.*—Colócase el tejido en ácido fórmico diluído en tres volúmenes de agua hasta que se vuelva transparente; después se le somete, 15 ó 20 minutos, á la acción del cloruro de oro al 1 por 100; y por último, á la de una solución de ácido fórmico en donde permanecerá en la obscuridad 24 horas. Transcurrido este tiempo, se macerará el tejido en la glicerina que contenga una tercera parte de ácido fórmico, hasta reducción completa, lo que se conseguirá en algunas semanas.

Klein modifica el método de Bremer, colocando en glicerina diluída y bajo el calor de 37° los tejidos ya tratados por el cloruro de oro.

Sertoli macera los tejidos 24 horas en solución al 1/2 por 100 de cloruro de oro, luego por unos días en bicromato de potasa al 2 por 100, y por último, en alcohol absoluto hasta reducción, etc.

f.—*El nuestro, modificación del de Cohnheim.*—1.° sumersión del preparado en una solución de cloruro de oro al 4 por 100; 2.° exposición durante una hora al sol en agua ácida; 3.° recoloración del tejido en una solución áurica muy concentrada al 10 por 100, y 4.° abandono del mismo en agua acetificada al sol, hasta que el tejido ofrezca una coloración violeta azulada, resultado que se obtiene de las 4 á las 8 horas de maceración.

Método de Golgi.—Trozos frescos de tejido se abandonan durante 15 minutos en ácido arsénico al $^1/_2$ por 100; luego se colocan por media hora en cloruro de oro y potasio al $^1/_2$ ó 1 por 100. Previo lavado, llévanse después las piezas al sol, donde quedan, bajo una solución al $^1/_2$ ó 1 por 100 de ácido arsénico, hasta que se efectúe la reducción. Con este método logró teñir Golgi sus órganos *musculotendíneos.* Es uno de los más constantes.

La conservación de las preparaciones doradas se efectuará en la glicerina ó en el bálsamo. Los cortes de córnea, piel, centros nerviosos, si antes han sido sometidos á la acción del alcohol para detener la acción reductiva, se conservan muy bien.

Indurantes.

Tienen por objeto aumentar la consistencia de los tejidos blandos para facilitar la práctica de cortes.

1.—**Alcohol.** En el laboratorio del micrógrafo, habrá siempre: alcohol absoluto ó en su defecto de 40°, alcohol de 36°, y alcohol al $^1/_3$. El alcohol sirve para endurecer las piezas anatómicas que se quieren reducir á secciones finas, y este aumento de consistencia se obtiene merced á la coagulación de los albuminoides de la célula y á la deshidratación del tejido. Empléase también este agente con objeto de deshidratar los cortes destinados á conservarse en el bálsamo de Canadá, y para endurecer los tejidos inyectados á la gelatina.

Posee el alcohol la ventaja, sobre otros líquidos indurantes, de dejar en pié las afinidades de los elementos para con las materias colorantes, y de endurecer más rápidamente. Una pieza anatómica de dos centímetros cúbicos de volumen, sumergida por 24 horas en

alcohol absoluto, alcanza una consistencia muy propia para la ejecución de cortes finos.

Cuando el alcohol no fuera bastante por sí á endurecer un tejido se engloba éste en celoidina ó parafina (véase más adelante).

2.—**Acido crómico.** Según su grado de disolución ofrece esta substancia acciones muy diferentes.

Hé aquí las principales:

A.—Agente indurante. Es su propiedad principal, de la que se saca mucho partido, preferentemente en el endurecimiento de los centros nerviosos. Mas, para obtener buenos resultados, es preciso ajustarse á las reglas siguientes: Supongamos que deseamos indurar un trozo de cerebro: Hágase primero una disolución de ácido en la proporción de 1 por 500 de agua, donde permanecerá el tejido lo menos 8 días. Al cabo de este tiempo, cámbiese esta disolución por una más concentrada (1 por 250), en la que abandonaremos la pieza anatómica durante otra semana. Por último, se la tratará por dos ó tres semanas más por una disolución al 1 por 100. Entonces sacaremos la pieza del líquido, la someteremos por un día á la acción del agua, á fin de purgarla del exceso de ácido crómico, y la guardaremos en alcohol hasta el momento de practicar los cortes.

Téngase presente que, para conseguir un buen endurecimiento por el ácido crómico, es necesario que la pieza anatómica sea todo lo pequeña posible, pues de lo contrario, las zonas centrales de ésta se descomponen sin aumentar de consistencia; así que no debemos nunca macerar piezas cuyo volumen exceda de tres ó cuatro centímetros cúbicos.

B.—Líquido aislador. Las soluciones muy débiles (al 1 por 2500) gozan de la propiedad de facilitar la disolución de los elementos por medio de las agujas.

Una mezcla de ácido crómico y alcohol se aconseja hoy como uno de los mejores indurantes. Para prepararla, se añaden á 20^{cc} de una solución al 5 por 100 de ácido crómico, 180^{cc} de alcohol metílico. Rutherfort halla excelente esta mezcla para indurar el caracol y la retina. Cada 24 horas se cambiará el líquido y se terminará á los pocos días el endurecimiento en alcohol metílico puro.

Una mezcla de solución de ácido ósmico al 1 por 400 y de ácido crómico al 1 por 1000 proporciona excelentes resultados en el en-

durecimiento de la retina y otros órganos delicados. Las preparaciones pueden montarse en el bálsamo sin previa coloración (Purser).

3.—**Bicromato de potasa.** Posee las mismas propiedades del ácido crómico, pero actúa más débilmente, por lo que las soluciones deberán ser más concentradas. La mejor solución contiene un 3 ó un 4 por 100 de bicromato de potasa.

Entra también en la composición del líquido de Müller, tan eficaz para el endurecimiento de la retina, compuesto de:

Agua.	100
Bicromato de potasa.	2 1/2
Sulfato de sosa.	1

Este líquido es de gran difusibilidad, por cuya propiedad puede emplearse para endurecer piezas de tamaño considerable, un riñón, por ejemplo. El endurecimiento es lento, y sólo es completo al cabo de algunas semanas, durante cuyo tiempo se tendrá cuidado de cambiar varias veces el líquido.

Las piezas induradas en bicromato son particularmente ventajosas para sufrir la acción del ácido ósmico, porque aquella substancia no altera como el alcohol la afinidad de las grasas por el ósmio.

Sucede á veces que la consistencia adquirida por los tejidos en el bicromato, no resulta suficiente para la práctica de cortes; no hay inconveniente entonces en reforzar la induración con el alcohol fuerte.

Entra el bicromato también en la composición del licor indurante de Erlicki, cuya fórmula es:

Bicromato de potasa.	2 1/2
Sulfato de cobre..	1/2
Agua.	100

Conviene esta solución de un modo especial para el endurecimiento de la médula. El líquido se cambiará diariamente durante ocho días, al cabo de cuyo tiempo la induración estará terminada ya.

4.—**Bicromato de amoniaco.** Aplícase también como indurante en solución acuosa al 2 por 100, bajo las mismas condiciones que el anterior. Este reactivo ha sido especialmente recomendado por

Haindenhain, en solución al 5 por 100, con objeto de indurar el riñón, porque preserva mejor que ninguno la estructura de las células epiteliales de esta entraña. El objeto permanecerá 24 á 48 horas en el líquido, terminándose el endurecimiento en el alcohol.

Ablandantes.

Se usan para rebajar la consistencia de las substancias excesivamente duras, (huesos, dientes, materia córnea, etc.), á fin de poder seccionarlos en cortes finos. Así, por ejemplo: el hueso, substancia que solo la sierra puede cortar en seco, puede seccionarse con la navaja con la misma facilidad que el cartílago, previo reblandecimiento en los ácidos. Los ablandantes más usados son:

1.—**Acido clorhídrico.** Se usa diluído en tres ó cuatro partes de agua destilada, y en él permanecerán los huesos algunos días hasta que adquieran la consistencia del cartílago.

2.—**Acido crómico.** Se emplea en solución al 1 por 100. Para obtener una buena decalcificación, es preciso que el trozo de material óseo no pase de un centímetro cúbico, y que sufra una maceración de muchos días. Este reactivo es preferible al anterior, porque conserva mejor la disposición de las células y demás partes blandas de la pieza anatómica. Se le preferirá siempre que se trate de neoplasias calcificadas, y de incrustaciones cartilaginosas y tendinosas.

3.—**La mezcla siguiente** recomendada por Purser, dá también muy buenos resultados:

Agua.	100
Acido crómico. . . .	1
Acido nítrico.	0,5

4.—**Líquido de Waldeyer.**

Cloruro de paladio. . . .	0,01
Acido clorhídrico al 1 % . .	1000

5.—**Líquido de Ebner.**

Acido clorhídrico.	2'5
Alcohol.	500
Cloruro sódico.	2,5
Agua destilada.	100

6.—**Liquido de Haug á la floroglucina.**

Floroglucina.	1
Acido nítrico.	10

caliéntase hasta disolución y añádase:

Agua destilada.	100

Observaciones: La cantidad de líquido con relación á las piezas debe ser considerable, para que la decalcificación sea rápida.

Antes de decalcificar toda pieza deberá ser fijada y endurecida en alcohol ó líquido de Müller.

Extraídas las piezas del líquido decalcificante, se lavarán, por 24 ó 48 horas, en agua destilada; después volverán al alcohol, donde se deshidratarán, esperando la inclusión definitiva.

La mejor materia de inclusión es la celoidina; la parafina produciría excesiva consistencia. Los córtes se teñirán á la zafranina, carmines, hematoxilina, etc.

De todos los decalcificantes, el más rápido es el de la floroglucina de Haug. Las piezas de mediana dimensión quedan privadas de la cal en un tiempo que oscila entre 1 y 12 horas. Con las demás fórmulas se precisa una maceración de varios días.

FIJADORES.

Así llamamos aquellos agentes que fijan y conservan la forma y estructura de las células vivas. Los principales son: las soluciones concentradas de ácido ósmico, el alcohol absoluto, el nitrato de plata, el bicloruro de mercurio y otros menos inportantes. Hé aquí algunas fórmulas muy usadas en la actualidad:

1.—**Reactivo de Kleinenberg.** Solución acuosa concentrada de

Acido pícrico.	100
Acido sulfúrico.	2

Para usar este líquido conviene diluirlo en dos ó tres veces su peso de agua.

2.—**Licor de Flemming.**

Agua destilada.	100
Acido crómico.	0'25
Acido ósmico.	0'1
Acido acético.	0'1

Mezcla de Fol. Es un líquido de Flemming más debil, y en ocasiones más conveniente, por cuanto respeta mejor las afinidades tintóreas de las células.

Acido crómico al 1 °/o	25
Acido ósmico al 1 °/o	2
Acido acético al 2 °/o	5
Agua.	68

En la mezcla de Flemming y de Fol permanecerán las piezas de 6 á 24 horas, según el volumen; luego se lavarán en agua, y concluirán de indurarse en alcohol. Estos fijadores son excelentes para el estudio de la kariokinesis.

Bicloruro de mercurio. Se usa disuelto á saturación en agua destilada. Las piezas frescas se abandonan en el reactivo durante 24 horas, después se lavan en mucha agua y se llevan al alcohol, desde el cual pueden pasar á la celoidina ó parafina, á menos que no se quiera teñir en masa antes de la inclusión. Este reactivo es también indurante. Fija bien las figuras kariokinéticas.

3.—**Método de Bobretzky.** Consiste en someter los tejidos frescos á la acción del agua á 80° centígrados durante algunos minutos. Después se los macera en alcohol. Este método es muy recomendable cuando se precisa fijar los pequeños organismos que pululan en las aguas, igualmente que los tejidos delicados de los insectos.

4.—**Acido ósmico** al 1 °/o . En este líquido se fijan las células

y tubos nerviosos, los corpúsculos sanguíneos y linfáticos, las fibras musculares, etc. Aunque las partes fijadas por el ácido ósmico se coloreen después por otros agentes, no pierden ya ni su forma ni su estructura. Una sola gota de este reactivo arrojada á un liquido que tenga infusorios en suspensión, basta para determinar la muerte y la conservación exacta de la forma de estos organismos.

Se cuidará que las partes que hayan de fijarse en el ácido ósmico sean muy pequeñas, pues este reactivo es muy poco difusible. Así mismo, se tendrá en cuenta que es perjudicial prolongar la acción del reactivo más allá de 5 á 8 minutos, porque el preparado adquiere demasiada opacidad y gran friabilidad.

5.—**El alcohol absoluto** y el nitrato de plata dan buen resultado, sobre todo en ciertos tejidos, como fijadores. El nitrato de plata se emplea á iguales dosis que como agente colorante. Empléase particularmente en inyecciones intersticiales para fijar en su forma los corpúsculos conjuntivos.

Licor de Perény.

Acido nítrico al 10 °/₀ . . .	40	cents.	cúbs.
Alcohol absoluto.	30	»	»
Acido crómico al 0,5 °/₀ . .	30	»	»

Este liquido fija los objetos pequeños en 5 ó 6 minutos. Prolongando la acción de 12 á 24 horas, se obtiene además una induración bastante notable que puede exagerarse todavía en el alcohol. Una vez extraído el objeto del fijador, se sumerge en alcohol al 70 °/₀ (por 24 horas); luego en alcohol al 90 °/₀, y por último, en alcohol absoluto.

La coloración puede hacerse en los carmines, hematoxilinas, anilinas, etc.

Se ha recomendado el liquido de Perény para el estudio de las células y fibras nerviosas, que fija perfectamente.

Cloruro de paladio. Aconsejado por F. E. Schulze para el fijado de los tejidos, debe actuar solamente algunos minutos. Se usa una solución compuesta de 0,1 á 0,3 de cloruro de paladio por 100 de agua que contenga algunas gotas de ácido clorhídrico. Prolongando la acción de este fijador por algunos días sobre el tejido nervioso,

obtiénese una acción indurante bastante notable y cierta coloración parda de las fibras medulares.

Paladino aconseja sumergir por 24 horas, los trozos de médula espinal indurada en el cloruro de paladio, en una solución al 4 por 100 de yoduro de potasio. Obtiénese así un precipitado negro-café de yoduro de paladio que se deposita predilectamente sobre los cilindros-ejes y las fibras neuróglicas, pero que no acentúa, ni con mucho, las expansiones protoplásticas y finas fibras nerviosas, como el método de Golgi.

Acido picro-nítrico de Mayer.

Acido pícrico.	0,6
Acido nítrico al 25 °/₀. . .	5 cents. cúbs.
Agua.	100

Debe actuar largo tiempo. Sirve para fijar y decalaficar.

Cloruro de platino (Babl). Se aplica en solución acuosa del 0,1 al 0,3 por 100. Debe actuar 24 horas. Fija perfectamente la estructura nuclear. Coloración subsiguiente con zafranina ó hematoxilina.

Ácido cromo-fórmico (Babl).

Acido crómico al 3 °/₀	200 cents. cúbs.
Acido fórmico concentrado. . .	5 gotas.

Debe actuar sobre las partes cuyos núcleos y figuras kariokinéticas quieran fijarse, de 12 á 24 horas. Antes de proceder al teñido, para el que se preferirá la hematoxilina ó zafranina, se lavarán, por algunas horas, las piezas en agua destilada y se indurarán en alcoholes de progresiva concentración.

Alcohol acético (Carnoy, van Beneden).

A	Alcohol absoluto.	300
	Acido acético.	100

ó también

	Alcohol absoluto.	600
B	Cloroformo.	300
	Acido acético..	100

Estos líquidos, especialmente la mezcla B, fijan rápidamente (10 á 15 minutos). Las piezas se trasladan al alcohol al 95 °/₀, donde permanecen 24 horas; después se induran en el alcohol absoluto.

La coloración más eficaz se obtiene con la hematoxilina ó el carmín de Grenacher.

La mezcla alcohólico-acética se recomienda eficazmente para el estudio del óvulo de los invertebrados, particularmente del del *Ascaris megalocefala,* cuyos fenómenos de maturación y fecundación permite estudiar fácilmente.

Mezcla cromo-mercúrica. Bicromato de potasa al 3 por 100.... 100; bicloruro de mercurio á saturación en agua, 100. Este líquido es un excelente fijador é indurante de todos los tejidos, incluso el nervioso, que adquiere una gran consistencia. Las piezas, una vez extraídas del reactivo, se lavan por 24 horas en agua, y se deshidratan en alcohol. Los cortes se tiñen perfectamente por toda clase de materias colorantes, apareciendo bien conservadas las figuras kariokinéticas.

Fijador de Altmann. Las piezas se fijan 24 horas en una mezcla de bicromato potásico disuelto al 9 °/₀, y de ácido ósmico al 2 °/₀: luego se induran en alcohol y se incluyen, según las reglas que más adelante expondremos, en parafina. Las secciones, que no deben pasar de una milésima, se coloran en el porta-objetos con traumaticina disuelta en cloroformo: la preparación se deseca á la llama, y después se trata con fuchina disuelta en agua de anilina. La decoloración tiene lugar con ácido pícrico. Por este método, que ha sido usado también recientemente por Zoja y otros autores, se coloran ciertas granulaciones proto-plasmáticas que Altmann llama *bioblastos* (1).

Ácido ósmico según Kolossow. Este autor trata las superficies epiteliales (mesenterio, pleura, etc.), mediante una solución de ácido ósmico al 1 por 100 que actúa 15 minutos; luego lubrifica el tejido con un líquido compuesto de:

Agua destilada.	450
Alcohol de 85°.	100
Glicerina.	50
Tanino..	30
Ácido pirogálico..	30

que deberá actuar 10 á 15 minutos.

(1) Para más detalles consúltese: *Altmann. Die Elementarorganismen und rhre Beniehungen zu den Zellen.* Leiprig, 1890.

El tejido adquiere un color negro intenso, que convendría reforzar todavía lavando el preparado con una solución débil de ácido ósmico ($^1/_4$ por 100). Lavado en agua, deshidratación en alcohol, y montage en bálsamo ó glicerina.

Por este método ha demostrado Kolossow la existencia de puentes de comunicación entre las células endoteliales, y otros detalles curiosos de estructura (1).

Agentes inofensivos.

Sustituyen á los medios orgánicos fisiológicos, y se usan á fin de observar los elementos, ó en plena vitalidad, ó en condiciones físicas idénticas á las normales. Los más usados son:

1.—**Líquido amniótico** de los mamíferos, puro ó iodado. Este último se consigue agitando el suero amniótico con pajuelas de iodo, que permanecerán en el líquido hasta que éste adquiera un fuerte color amarillento. El iodo debe hallarse siempre en exceso, para que la solución se conserve saturada; de no ser así, sobrevendría la descomposición del vehículo.

2.—**Suero artificial de Schultze**, compuesto de:

Albúmina de huevo. . . .	30
Cloruro de sodio.	2'50
Agua destilada.	270

3.—**El suero de Kronecker**, que consiste en *plasma sanguinis* desecado en el vacío y redisuelto en agua.

4.—**La solución de Hayem** qne conserva sin alteración el tercer elemento de la sangre, el hematoblasto de aquel autor, plaqueta de Bizzozero.

Sublimado corrosivo.	0'050
Cloruro de sodio.	1
Sulfato de sodio.	5
Agua.	100

Son también vehículos inofensivos, el humor acuoso, el plasma

(1) *Kolossow.* Ueber eine neue Methode der Bearbeitung der gelvebe mit Osmiumsaure. *Zeitschrift f. wissenschaf. Micros,* &. Bd. IX, H. I. 1892.

interorgánico procedente del animal cuyos elementos estudiamos, y en fin, el agua misma para algunos tejidos poco alterables.

En muchos casos se usará con ventaja una solución de sal al 0'75 por 100.

CONSERVADORES.

Para conservar temporal ó definitivamente las preparaciones, pueden emplearse varios líquidos cuya preferencia se ajustará á la naturaleza del objeto que se desee resguardar. Hé aquí los más empleados:

1.—**La glicerina** es un gran medio conservador; mas tiene el inconveniente de retraer algo las células y eclipsar ciertos detalles íntimos, por ejemplo, el retículo, las pestañas vibrátiles, etc.; así que no la usaremos nunca para conservar piezas delicadas y con exceso transparentes.

2.—**La glicerina gelatinada** compuesta de

Agua destilada.	3
Glicerina.	4
Gelatina.	1

no ofrece ninguna ventaja positiva sobre la glicerina pura, si no es dar más estabilidad á la preparación.

3.—**Solución conservadora de Farrant.** Agua saturada de ácido arsenioso 100 partes; glicerina 100. En la mezcla resultante de la unión de estas substancias se disuelve goma arábiga hasta saturación.

Este líquido es de una aplicación muy cómoda. Al secarse, al cabo de unos días, forma alrededor del porta-objetos una costra dura que equivale á una cementación.

4.—**Bálsamo del Canadá.** Se usa tierno, desecado y en caliente, y disuelto en el xilol. Para incluir en él una preparación es preciso que ésta haya sido perfectamente deshidratada por el alcohol, y además que esté fuertemente coloreada, pues de lo contrario, el bálsamo borraría todo detalle. (Véase más adelante su empleo.)

5.—**La goma damar** disuelta en el xilol, puede emplearse con

igual objeto, con tal que la solución sea muy concentrada. Los solutos débiles producen burbujas en los preparados conforme éstos se desecan.

6.—**La solución balsámica siguiente** (Purser) dá también buenos resultados:

Goma damar.	15 gramos.
Goma mastic.	15 »
Bencina.	90 »

Para tejidos delicados, glóbulos rojos, médula ósea, tubos nerviosos, etc., pueden convenir substancias que no aclaren demasiado los objetos, tales son: los líquidos de Pacini y de Goadby á base de sublimado, los de Ordoñez, etc. No detallamos las fórmulas de estos líquidos porque hoy apenas se emplean ya, al menos para conservaciones definitivas. La escasa transparencia que dan á los cortes, la facilidad extrema con que se evaporan, la desaparición lenta del teñido, son circunstancias desventajosas, que no concurren en la solución en xilol del bálsamo del Canadá seco (menstruo casi exclusivamente usado hoy en muchos laboratorios), ni en la glicerina convenientemente aplicada.

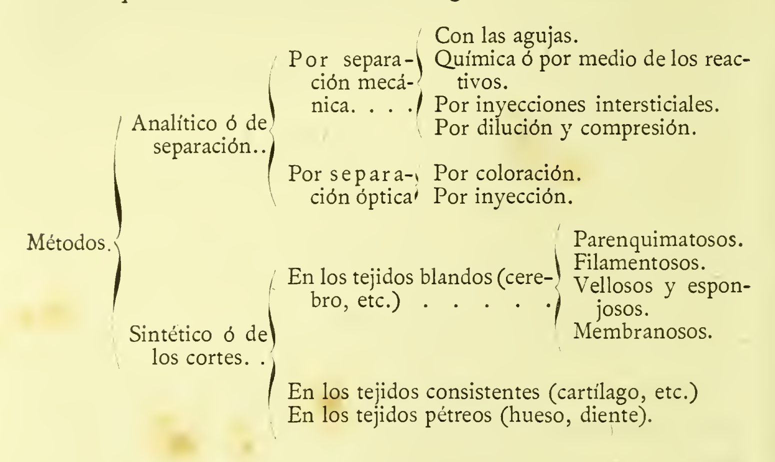
SECCIÓN TERCERA.

MÉTODOS HISTOLÓGICOS.

CAPÍTULO I.

Las distintas propiedades físicas y químicas de los tejidos, su varia conformación y estructura han dado lugar á diversos procedimientos de demostración. Así, los tejidos fibrosos se estudian por la disociación, los parenquimatosos por el método de los cortes, los membranosos por la distensión, los líquidos por la dilución, etc. Estos distintos *modus operandi,* han sido designados con el nombre de *métodos histológicos.* Aunque el número de métodos es indefinido, tanto como pueden serlo los procederes de preparación que la demostración de la textura de cada tejido exija, cabe, no obstante, reducirlos todos á dos: *el analítico ó aislador* que abarca el conjunto de medios aplicables al estudio individual de cada elemento; y el *sintético ó de conjunto* realizado mediante la práctica de cortes, por el cual el micrógrafo pone de manifiesto el engranaje y relaciones recíprocas de los corpúsculos histológicos.

Hé aquí un cuadro de los métodos generales:



- Métodos.
  - Analítico ó de separación..
    - Por separación mecánica. . . .
      - Con las agujas.
      - Química ó por medio de los reactivos.
      - Por inyecciones intersticiales.
      - Por dilución y compresión.
    - Por separación óptica
      - Por coloración.
      - Por inyección.
  - Sintético ó de los cortes. .
    - En los tejidos blandos (cerebro, etc.) . . . . . .
      - Parenquimatosos.
      - Filamentosos.
      - Vellosos y esponjosos.
      - Membranosos.
    - En los tejidos consistentes (cartílago, etc.)
    - En los tejidos pétreos (hueso, diente).

MÉTODO ANALÍTICO.—DISOCIACIÓN MECÁNICA.

1.—**Disociación con las agujas.** Esta operación puede ejecutarse en todos los tejidos blandos, pero se efectúa preferentemente en los formados de fibras largas paralelamente dispuestas, como por ejemplo: el tejido muscular, nervioso, fibroso, etc. Los tejidos parenquimatosos y los epiteliales, se prestan mal á este género de separación.

Para llevar á cabo esta delicada maniobra, se comenzará por colocar los trozos de la pieza que se desea disociar sobre un fondo ú objeto negro ó blanco según el color del tejido, á fin de que éste destaque claramente y puedan seguirse con la vista las delicadas hebras que resulten de la fragmentación. Será conveniente auxiliarnos del microscopio simple, aunque esto no es completamente indispensable. A favor de las agujas, las partes ya groseramente disgregadas se fraccionarán en más diminutas porciones por estiramientos y desgarros repetidos. Casi siempre se logra por este procedimiento aislar completamente algunos corpúsculos ó fibras de la preparación, sobre todo si la ganga interfibrilar es poco consistente.

2.—**Disociación con los reactivos.** Pero hay tejidos cuyos elementos no están orientados en una misma dirección, sino que for-

man un *plexus* inextricable; á mayor abundamiento la ganga intercalar puede ofrecer gran consistencia y tenacidad, y no consentir sin grandes desgarros y deformaciones la separación de las células: los epitelios, las glándulas, los músculos de fibra lisa, los centros nerviosos hállanse en este caso; de aquí la necesidad de emplear medios químicos que disuelvan ó reblandezcan la materia citada, y endurezcan ó respeten los corpúsculos en ella sumergidos. El alcohol al tercio, el ácido nítrico diluído, la potasa, el bicromato de potasa nos auxiliarán poderosamente en el aislamiento de las células. Los tejidos frescos se macerarán por 24 horas ó más en estos líquidos (exceptuando la potasa que obra más rápidamente); se agitará fuertemente el frasco que los contenga, y se tomará por fin, para hacer la preparación, un poco del precipitado que se deposita en el fondo de la vasija.

Sin embargo, ocasiones hay en que se tropieza con grandes dificultades, y todos los recursos técnicos se estrellan ó sirven muy para poco. La disociación de una célula nerviosa multipolar, de un corpúsculo de Pacini ó de Krause, de una placa terminal de Rouget, etc., constituyen no pocas veces una obra de verdadera paciencia, en cuyo éxito entra por mucho el azar.

3.—**Aislamiento por inyecciones intersticiales.** En los tejidos laxos fácilmente alterables, donde los elementos están separados por espacios plasmáticos, la disociación se obtiene inyectando en las citadas mallas un líquido fijador, ácido ósmico, nitrato de plata, ó un agente colorante (picrocarminato).

Si tomamos por medio de unas tijeras curvas un pedazo de la bola de edema constituída por la materia de inyección, y la observamos al microscopio, todos los elementos normales del tejido se verán claramente y con su posición habitual, gracias á su separación y coloración por la substancia inyectada. Este procedimiento ha sido puesto en boga por Ranvier, quien lo ha aplicado con felicísimos resultados al estudio del tejido conectivo y del nervioso.

4.—**Aislamiento por disolución y compresión.** Por último, si desea estudiarse un líquido que posea elementos anatómicos en suspensión (sangre, pus, saliva, etc.), bastará colocar una pequeña gota entre la lámina porta y cubre-objetos, comprimiendo suavemente con éste hasta que el líquido forme una capa delgada y

transparente. Cuando el líquido sea demasiado rico en corpúsculos convendrá diluirlo en los líquidos inofensivos.

Coloración.

Las preparaciones, cualquiera que sea su naturaleza y el método por cuya virtud han sido ejecutadas, no son de ordinario suficientemente demostrativas, si no se las colorea con aquellos agentes que poseen particular selección para con sus elementos. Ocioso será advertir que la naturaleza y dilución del agente tintóreo empleado variarán según el resultado que se desee obtener. Si pretendemos teñir los núcleos, nos serviremos del carmín ó del verde de metilo, etc.; si los protoplasmas, de la eosina; si las fibras elásticas y epidermis, del ácido pícrico ó zafranina; si de la grasa, del ácido ósmico; si de los cementos intercelulares, del nitrato de plata, etc. Las preparaciones teñidas por la plata ó por el osmio se prestan á ser coloreadas por los demás reactivos, pudiéndose obtener así coloraciones dobles, triples, etc.

Cuatro métodos generales de coloración pueden ponerse en práctica: 1.° el método de las coloraciones rápidas; 2.° de las lentas; 3.° el llamado de Hermann, de la sobre-coloración, seguida de decoloración, y 4.° el de las dobles coloraciones.

a—*Coloración rápida.* Usual y corriente con el picro-carminato verde de metilo, eosina, hematoxilina. Para obtenerla se depone sobre un porta-objetos una gota de materia colorante; sumérjese en ella el corte ó tejido destinado á la tintura, y, cuando la intensidad de color del preparado parezca suficiente (y bastan ordinariamente algunos minutos de sumersión), se saca el corte, se lava ligeramente en agua y se conserva en la glicerina ú otro vehículo á propósito. Este manual se refiere á las preparaciones frescas ó induradas en alcohol; mas si la pieza anatómica se maceró en ácido crómico ó se fijó antes por el ácido ósmico ó nitrato de plata, requiérese comunmente un tiempo mucho más prolongado de maceración en el reactivo colorante.

b—*Las coloraciones lentas* suelen dar resultados más seguros. Convienen especialmente en la aplicación del picro-carmín, carmín

aluminoso, cochinilla de Czokor, etc., y son indispensables en las coloraciones en bloque de trozos de tejidos de considerable tamaño, destinados á las inclusiones en la parafina.

c—*Método de Hermann.* Muy en boga en la actualidad para el teñido de los núcleos, tiene la ventaja de producir coloraciones brillantes de la cromatina y de la substancia córnea. Todos los colores básicos de anilina dan buen resultado, pero especialmente el azul de metilo, la zafranina, la fuchina, el pardo Bismarck, el violado de genciana, el de dalia, el de metilo, etc. Otra ventaja de este método estriba en que la selección se obtiene hasta en cortes de piezas sobre-induradas en ácido ósmico, crómico, pícrico, licor de Flemming, etc., en ocasión en que ni el picrocarmín, ni la hematoxilina serían de provecho.

Como ejemplo de la aplicación de este proceder, expongamos aquí el *modus operandi* del teñido á la zafranina, especialmente recomendado por Flemming.

1. Los cortes, extraídos del alcohol, se abandonan por media á una hora, en una solución saturada de zafranina en agua.

2. De aquí se trasladan, uno á uno, al alcohol de 40°, donde se despojarán del exceso de color. Conviene pasar los cortes por varios alcoholes hasta que aparezcan de un matiz rosa algo intenso.

3. Aclaramiento en esencia de clavo, que decolorará algo los cortes y disolverá la celoidina.

4. Traslación de los cortes á la esencia de bergamota ó de trementina, donde el color se mantendrá sin palidecer (estas esencias no disuelven las anilinas).

5. Montaje en bálsamo seco disuelto en xilol.

Se procederá casi lo mismo con las demás anilinas básicas. Las poco solubles en agua se disolverán en mezcla de agua y alcohol.

Cuando las piezas no han sido englobadas en celoidina, no se precisa aclarar los cortes en la esencia de clavo (cuya acción decolorante hay que vigilar mucho), siendo preferibles la esencia de bergamota, la de trementina, la de cedro y el xilol, que respetan las anilinas.

Si la coloración de los núcleos queda pálida, ello puede provenir de varias causas: exceso de decoloración; poca permanencia de los cortes en el líquido tintóreo; escasa concentración de éste. Las

más enérgicas coloraciones se obtienen con el uso de soluciones coloradas calientes (50° á 60°).

d—*Dobles coloraciones.* Se obtienen tiñendo primero con el carmín aluminoso, cochinilla de Czokor ó hematoxilina, y subsiguientemente por la eosina, índigo-carmín, ácido pícrico, nigrosina, en fin, por un color que impregne el fondo y carezca de selección nuclear.

Una de las mejores coloraciones dobles es la de *eosina* y *hematoxilina.*

Hé aquí el *modus operandi:*

1. Los cortes ó la preparación por disociación se someten por algunos minutos á la acción de hematoxilina madura, recién filtrada, ya pura, ya diluída en solución de alumbre.

2. Lavado en mucha agua para arrastrar el exceso de color.

3. Inmersión de los cortes por dos minutos en solución de eosina en agua (al 1 por 200).

4. Nuevo lavado en agua.

5. Lavados repetidos en alcohol de 40° ó absoluto.

6. Aclaramiento en xilol ó aceite de cedro y montaje en bálsamo.

La coloración doble de *carmín alcalino* y *ácido pícrico* ó índigo carmín, se realiza del siguiente modo:

1. Los cortes permanecen media hora en la solución saturada de carmín en carbonato de litina (carmín de Orth).

2. Traslación de los mismos al clorhidrato de alcohol (alcohol 100, ácido clorhídrico unas gotas), donde permanecerán dos ó tres minutos, ó hasta que todo, excepto los núcleos, aparezca decolorado.

3. Lavado en mucha agua para extraer el ácido.

4. Inmersión de los cortes en solución al 1 por 200 de ácido pícrico ó en solución saturada de carmín de índigo.

5. Nuevo lavado en agua.

6. Alcohol absoluto, esencia de clavo, xilol y bálsamo del Canadá.

Los núcleos aparecen rojos y azulado ó amarillo el tejido conectivo y substancia córnea.

La coloración doble ó triple que proporciona el *picrocarminato*

es bien conocida y apreciada. El *modus faciendi* más seguro es el siguiente:

1. Se sumergen los cortes llegados del agua, durante una hora ó más, en un pocillo de porcelana que contenga picro-carmín.

2. Lavado de los cortes en agua donde haya disueltos un poco de ácido pícrico y dos ó tres gotas de ácido hidroclórico ó acético.

3. Nuevo lavado en agua con algo de ácido pícrico.

4. Deshidratación en alcohol de 40°.

5. Aclaramiento en esencia de clavos para extraer la celoidina, ó en creosota para respetarla.

6. Inclusión en bálsamo disuelto en xilol.

Si después de un teñido con el carmín lítico ó borácico se tratan los cortes previamente lavados por la hematoxilina reciente (no madura), los núcleos se revelan en rojo y el fondo y tejido conectivo en violado.

Pianese (1) recomienda un proceder de *coloración triple* que dá buenos resultados:

1. Coloración preliminar de los cortes en el carmín de Orth.

2. Inmersión por 10 minutos en la solución de picro-nigrosina de Martinotti. Este color se prepara disolviendo á saturación en alcohol ácido pícrico y nigrosina. A dos partes del líquido obtenido se añade una de aceite de anilina y se deja evaporar. Los cristales obtenidos se redisuelven en alcohol al 1 por 100.

3. Decoloración en alcohol que contenga 1 por 100 de ácido oxálico.

4. Deshidratación en alcohol, xilol y bálsamo.

Inyecciones.

Aunque los vasos, preferentemente los capilares, son susceptibles de ser demostrados por los medios técnicos ordinarios, por ejemplo, por el carmín que tiñe los núcleos de la pared vascular, y por el nitrato de plata que ennegrece el cemento interendotelial, tales recursos solamente son aplicables á las partes membranosas. Forzoso nos será, para reconocer la riqueza y forma de las redes

(1) Un nuovo metodo de colorazione dopia. *Riforma medica*, 1890.

capilares, acudir á procedimientos más demostrativos y completos. Son éstos las inyecciones vasculares. Bien considerado, el resultado por estos medios obtenido es un simple hecho de distinción por coloración. A diferencia de los reactivos colorantes que tiñen por afinidad electiva, la inyección tiñe por englobamiento mecánico. Tanto el agente que obra por selección, como la masa inyectada, son, por lo tanto, verdaderos medios analíticos, con una ventaja por parte del último, y es que, no tiñendo más que el capilar, destaca éste con admirable corrección y claridad sobre el fondo incoloro de los demás elementos, consiguiéndose preparaciones de una belleza y de un rigor analítico incomparables.

Las inyecciones pueden ser opacas y transparentes, líquidas y coagulables.

Las opacas son las que se efectúan con masas espesas de colores al óleo mezcladas á los barnices de pintores. Exigen complementariamente la destrucción por maceración de todas las partes organizadas, para que sean visibles los vasos, y la inclusión de la pieza en el bálsamo del Canadá. Estas inyecciones están hoy casi del todo abandonadas, dándose la preferencia á las masas transparentes por las siguientes razones: 1.º Con las masas opacas sólo es visible el plano superior de la preparación, con las transparentes todos. 2.º Las opacas exigen el sacrificio de las partes no vasculares, á fin de que pueda observarse el espesor del tejido, en tanto que con las transparentes se conservan las partes vasculares y no vasculares, pudiendo estudiarse sus recíprocas relaciones. 3.º La inyección opaca exije el empleo de substancias semiduras, y por ende, poco penetrantes, de donde la imperfección de los resultados; las transparentes se ejecutan con materias líquidas y muy penetrantes, por lo cual facilísimamente se consigue la plenitud de los más diminutos capilares.

Inconvenientes de monta han hecho caer también en desuso las inyecciones líquidas, transparentes y no solidificables. Los principales son: la retracción de los capilares que no pueden retener el líquido inyectado, la fácil extravasación de éste, y, sobre todo, la circunstancia de que, una vez ejecutada la inyección, es fuerza resignarse á indurar toda la pieza en alcohol, ó soportar, en caso de fragmentación del órgano para elegir la zona mejor inyectada, los

inconvenientes de la extravasación de la materia colorante. No así con las materias coagulables, por ejemplo, las masas á la gelatina: los vasos se llenan perfectamente, la inyección no difunde apenas, y algunos minutos después de practicada ésta, puede cortarse la pieza sin peligro.

1.—**Masas de inyección.** El principio de las inyecciones transparentes hoy exclusivamente usadas es: hallar una materia colorante que, aunque disuelta, no trasude de los vasos, y la cual sea insoluble en el alcohol donde el tejido ha de ser endurecido, y en el bálsamo del Canadá donde ha de ser conservado; condiciones harto difíciles de llenar, pues como es sabido, casi todas las materias colorantes solubles son dialisables y trasudan de los capilares. No obstante, la experiencia acredita que el carmín neutro y el azul de Prusia soluble, asociados á la gelatina, llenan cumplidamente el programa. Y no porque la gelatina, substancia coloide, preste á aquellas materias resistencia á la exudación, sino por natural propiedad de las mismas, puesto que la gelatina asociada á otras materias colorantes solubles no las transforma en indialisables. Posible es, que el carmín y el azul de Prusia preparado como más adelante indicaremos, sólo estén disueltos en la apariencia según la afirmación de Robin, pero de todas suertes, el precipitado en suspensión, caso de existir, no se muestra al microscopio.

1.—*Masa al carmín gelatinado.* Hé aquí la fórmula aconsejada por Ranvier, y á la cual debemos los mejores resultados. Dos gramos y medio de carmín laca *extra* se mezclarán con unas gotas de agua. Sobre la pasta blanda resultante se echarán algunas gotas de amoniaco hasta que el barro de carmín quede disuelto. En otra vasija se disolverán á un suave calor 5 gramos de gelatina en la cantidad de agua que hayan absorbido durante algunas horas de hidratación.

Dispuestas las dos soluciones, viértase el carmín gota á gota sobre la gelatina, y agítese vivamente. El líquido espeso resultante exhala fuerte olor amoniacal. La operación final tiene precisamente por objeto neutralizar el amoniaco libre con una solución de ácido acético, hasta que el olor amoniacal desaparezca. Téngase presente durante esta operación, que no conviene pasar del límite de la neutralización, so pena de ver precipitarse el carmín y perder la masa

de inyección. Neutralizada la masa, fíltrese después, caliente aún, sobre una franela ó un lienzo tupido y póngase en baño maría hasta el momento de ser utilizada.

2.—*Azul de Prusia soluble.* Para prepararle se pesan 80 gramos de persulfato de hierro que se disolverán en 1.000 de agua destilada y 100 gramos de cianuro-férrico-potásico que se disolverán igualmente en 1.000 de agua. Se mezclarán ambos líquidos, y el precipitado resultante, que es el azul de Prusia común é insoluble, se recogerá en un filtro donde se lavará con agua destilada, durante algunos días, hasta que el agua azulee al pasar por el precipitado, lo que será indicio de que el azul se vá haciendo soluble. Cuando á fuerza de lavados la solubilidad sea completa, se recogerá el azul de Prusia y se le conservará ya por desecación, ya en una solución saturada. Para componer la masa de inyección, se asocian á unos 5 gramos de gelatina disuelta en su agua de hidratación, 6 ú 8 de la disolución saturada de azul.

Este es el azul que proporciona las más bellas inyecciones, pero como su preparación es engorrosa y pesada, se ha discurrido emplear el azul de Prusia asociado á su disolvente el ácido oxálico. He aquí la fórmula de Cadiat, que hemos probado con regular éxito. En una solución de ferro-cianuro de potasio se echa gota á gota percloruro de hierro líquido, agitando contínuamente. El precipitado resultante es el azul de Prusia; se recoge en un filtro, seca y pulveriza en un mortero con ácido oxálico; después se disuelve en agua y se filtra. El líquido filtrado es el azul hecho soluble por el ácido oxálico, al cual se agregará la gelatina para preparar la masa de inyección.

Harting recomienda una fórmula parecida á la anterior: Macháquese en un mortero una parte de ácido oxálico con otra de azul de Prusia insoluble del comercio. Disuélvase la mezcla en 12 partes de agua y échese gota á gota el azul así preparado en 12 partes de solución concentrada de gelatina.

Estas fórmulas dan medianos resultados: el azul se precipita siempre poco ó mucho en los vasos, y no es raro que palidezca y amarillee en contacto con las materias alcalinas de los tejidos. Para evitar este defecto, convendrá acetificar ligeramente los líquidos donde las piezas hayan de macerarse.

Las demás fórmulas aconsejadas por los autores de técnica, son muy inferiores á las anteriores. Aconsejamos á nuestros lectores que ensayen la fórmula al carmín exclusivamente ó la del azul de Prusia soluble, según la primera fórmula, pues son las dos únicas que dan infalibles resultados.

3.—*Nitrato de plata.* Se usa unido á la gelatina para inyectar los vasos de los órganos transparentes, mesenterio, etc., y revelar particularmente el endotelio de los capilares. La masa de inyección se obtiene juntando á una solución concentrada de gelatina la mitad de su volumen de un soluto de nitrato de plata al 1 por 300.

Los vasos adquieren con esta materia un color lechoso que pasa á moreno por la acción de la luz, á causa del ennegrecimiento acaecido en los cementos interepiteliales.

4.—*Tinta china.* Asociada á la gelatina constituye una masa de color negro azulado que no difunde de los vasos y que sirve lo mismo para inyecciones opacas que para transparentes. El color visto al microscopio se presenta gris homogéneo.

2.—**Aparato de inyección.** Puédense en realidad ejecutar muy buenas inyecciones con las jeringuillas de Robin, Ordóñez y Ranvier, que apenas difieren, si no es por el tamaño y delgadez de las cánulas, de las usadas para inyecciones macroscópicas en los anfiteatros de anatomía. Todas ellas están provistas de un cuerpo de bomba con su émbolo ajustado, de cánulas delgadas, unas con cabo en forma de pico de flauta para inyecciones intersticiales, y otras de las ordinarias con una extrangulación en su extremo para sujetar el hilo.

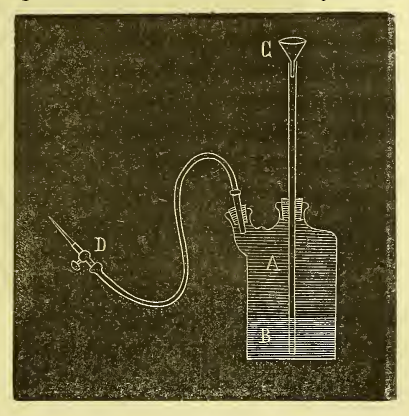


Fig. 19.—Aparato de inyección de presión continua de Ludwig. A, materia de inyección. B, mercurio.

Mas como todos estos aparatos se manejan con la mano, cuya presión es desigual y ocasionada á producir rupturas capilares, hánse ideado los llamados *aparatos de presión continua.*

a. De entre estos, el más sencillo es el de *Ludwig* (fig. 19), donde el mercurio hace el papel de fuerza motriz, rechazando conforme cae en un frasco, la materia de inyección compelida á salir por el tubo D portador de la cánula.

b. *El de Lacaze Duthiers.*—Consta de un cuerpo de bomba de vidrio montado sobre un pié circular de latón, de cuya parte inferior emergen dos tubos provistos de sus correspondientes llaves: uno terminado libremente y destinado á aspirar la materia de inyección; y el otro más largo, con un porta-cánulas en su extremo libre, consagrado á conducir el líquido á los vasos del animal. Dentro del cuerpo de bomba, se mueve verticalmente un pistón, cuyo tallo dentado sube ó baja á beneficio de una cremallera sujeta á la parte superior del aparato. Algunos modelos poseen en la extremidad alta del tallo del pistón una plataforma para colocar pesos que hacen bajar lentamente el émbolo.

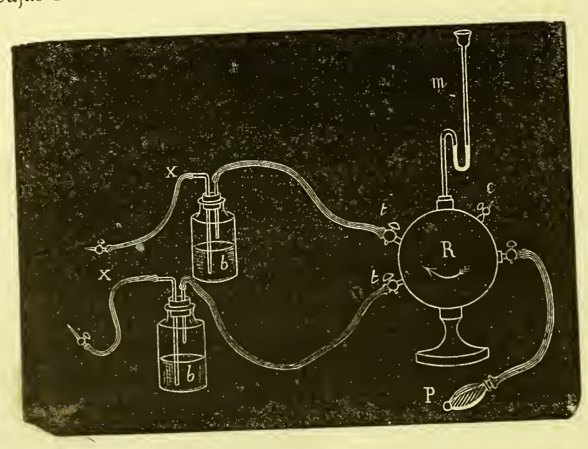


FIG. 20.—Aparato de inyección de Latteux.

c. *El de Latteux* (fig. 20), del cual se ha hecho una modificación por Gillet, bajo el nombre de *Propulsor histológico*, consta de varias partes: 1.º De un reservorio de aire (R) construído de cobre, de forma esférica y provisto de un manómetro de mercurio (m); 2.º de varios tubos con llaves que toman arranque en la citada bomba; 3.º de dos frascos (b) á mitad llenos, el uno de masa de

inyección al carmín, el otro de azul de Prusia soluble. Los expresados tubos son: uno que conduce á una pera de *caoutchouc* (P), donde se ejerce la presión; otro que mediante una llave puede establecer la comunicación del depósito de aire con el exterior, para equilibrar las presiones (e), y dos (f) que terminan en los frascos que contienen la inyección. Agreguemos aún, para ser completos, dos tubos portadores de las cánulas (x) que, tomando nacimiento en los frascos (de las masas mismas de inyección), tienen por oficio conducir éstas, cuando el aparato funciona, á los vasos del animal. Una simple inspección de la figura 20, basta para comprender el mecanismo funcional de este aparato.

Cánulas de gruesos diversos, mandrines, hilos encerados, escalpelos, pinzas ordinarias y de presión, etc., completarán el aparato instrumental necesario para la práctica de las inyecciones.

A pesar de las ventajas que en determinadas circunstancias pueden tener los aparatos de presión contínua, creemos que una jeringuilla ordinaria de inyección histológica, la de Robin por ejemplo, basta para casi todos los casos. Los aparatos imponentes y complicados embarazan más que auxilian al operador; y en cuanto á las ventajas de la presión contínua, éstas se suplen con el hábito y algunas precauciones en las jeringuillas comunes, consiguiéndose sín grande esfuerzo la seguridad de mano indispensable para no romper los vasos y extravasar la inyección.

Es más, consideramos que las presiones ejercidas con la mano libre, como que son esfuerzos inteligentes proporcionales á la intensidad del obstáculo, llevan ventaja á los esfuerzos ciegos de los aparatos de presión; porque la resistencia que hay que vencer no es constante y uniforme, varía en cada uno de los momentos de la maniobra; insignificante al principio, se exagera más tarde cuando gran parte de la masa ha penetrado y la gelatina se enfría. Por último, estos aparatos no hacen tan sensible como el impulso de la mano la brusca falta de resistencia, signo seguro de la extravasación.

3.—**Manual operatorio.** Las inyecciones histológicas en el hombre y mamíferos de gran talla deben ser parciales por dos razones: por ahorrar masa de inyección al carmín que es una substancia cara; y porque las inyecciones parciales son más completas que las ge-

nerales. Si se desea inyectar la piel, la arteria elegida será una de las colaterales de los dedos; si el riñón, la arteria renal, etc. Los pequeños animales como la rana, el ratón, el conejillo de Indias y aun el conejo común, podrán ser objeto, sin graves inconvenientes, de una inyección general, que se verificará por la aorta, excepto en la rana que lo será por el corazón, introduciendo la cánula de abajo arriba, hasta el bulbo aórtico. En el conejo convendrán mejor las inyecciones regionales; así una inyección de abajo á arriba por la carótida llenará admirablemente los capilares de todos los órganos correspondientes á una mitad de la cabeza; los riñones, intestinos, ovarios, etc., se inyectarán muy bien por la aorta torácica; el hígado por la vena porta, etc.

Lo primero que es preciso hacer antes de dar comienzo á la inyección es poner el vaso al descubierto, lo cual exige, si ha de llevarse á buen resultado esta maniobra, el conocimiento de todas las precauciones del arte de las ligaduras arteriales, amén de no vulgares nociones anatómicas. La inclusión de la cánula es sencilla operación en los vasos gruesos, pero difícil en las delicadas arterias de los pequeños mamíferos. Se facilita la operación: 1.º haciendo en el vaso un hojal longitudinal de mayor extensión que la necesaria á la intromisión de la cánula, 2.º evitando el estiramiento del vaso para que no disminuya el calibre, y 3.º eligiendo siempre cánulas de mucho menos diámetro que el de la luz de la arteria donde han de insinuarse. Puesta y sujeta la cánula, no nos olvidemos nunca de inquirir, mediante la introducción en ella de un delgado mandrín, si hay continuidad de cavidad entre la arteria y la cánula, no sea que ésta se haya deslizado entre las túnicas del vaso, ó un pequeño coágulo haya venido á obstruir la extremidad de la misma.

Cuando se inyecta un órgano por una de sus arterias, es preciso ligar las otras y aun sus venas, para que no se extravase la masa de inyección. Sin embargo, no siempre conviene ligar las venas; á veces es ventajoso dejarlas abiertas para que en ellas se refugie la sangre rechazada de los capilares por el líquido inyectado. Sólo al final de la operación se ligarán las venas suprahepáticas en las inyecciones de la vena porta, la vena renal en el riñón, las yugulares en la del cerebro. Mejor y más cómodo que la ligadura, es aplas-

tar las venas, cuando las va llenando la materia de inyección de retorno de los capilares, con las pinzas de presión continua, de las que tendremos dispuestas un buen número para ocurrir á todas las contingencias.

El acto de la penetración de la masa de inyección es sumamente delicado, y es preciso ejecutarlo con suavidad, manteniendo una presión casi constante. La brusca cesación de la resistencia nos probará que la materia de inyección se ha extravasado; anúnciase este fenómeno también por una repentina tumefacción de las partes. Si el punto de ruptura es accesible, los efectos de ésta podrán corregirse con unas pinzas de presión; de no ser visible debemos sacar la pieza del baño y colocarla en agua fría para acelerar la coagulación de la gelatina. Cuando la extravasación tiene lugar después de haberse llenado el sistema capilar del órgano, no perjudica gran cosa al éxito de la inyección.

Por lo demás, existen órganos donde convendrán las inyecciones incompletas. El riñón es uno de ellos. Si llevamos la inyección en esta entraña hasta la plenitud de sus vasos capilares, es seguro que la materia trasudará en los glomérulos, llenando los tubos uriníferos, á consecuencia de lo cual los principales detalles del glomérulo, sobre todo sus vasitos aferente y eferente, y aun los capilares intersticiales, desaparecerán bajo un color rojo uniforme.

Para apreciar cuándo la inyección es completa nos guiaremos por una cierta impresión de resistencia casi insuperable, y además, en las partes accesibles, por el color que adquieren, y en las inaccesibles por la plenitud de las venas eferentes. Claro está que el grado de color que ostenta exteriormente el órgano inyectado, depende en gran parte de su riqueza vascular, y que no debemos esperar que la piel, el tendón, el fibro-cartílago adquieran nunca la intensidad de matiz del hígado, pulmón ó riñón, partes eminentemente vasculares. Pero por punto general, el órgano bien inyectado se presenta, si lo está por el carmín, de un rojo subido, si por el azul, de un azulado negro intenso. De no ser así, es indudable que la materia colorante no ha penetrado bien.

Practicada la inyección, se dejará enfriar la pieza anatómica, á fin de que la gelatina se coagule; se cortará el órgano en pedazos y se conservarán en alcohol hasta el momento de ejecutar los cortes.

Conviene saber que las secciones de las partes inyectadas, no es bueno que sean tan finas como las destinadas en los demás tejidos al estudio de las células y demás elementos; porque siendo las mallas de la red vascular muy voluminosas, de ser el corte delgado, no podría demostrarse la totalidad de la red, sino fragmentos de la misma. Sin embargo, no hay que entender este consejo como regla absoluta y general, pues existen órganos como el pulmón, el hígado y los riñones, cuya riqueza en capilares y la extremada delicadeza de éstos, no consienten secciones más gruesas que las acostumbradas para las demostraciones de testura; de otra suerte las redes se revelarían confusamente bajo un color uniforme.

MÉTODO DE LOS CORTES.—SECCIONES EN TEJIDOS BLANDOS.

Los tejidos blandos se someterán primero á la acción del alcohol, del ácido crómico, etc., para que adquieran la debida consistencia. Si ni aun con estos medios se consiguiera el objeto deseado, puede aumentarse la dureza del tejido abandonándolo por 24 horas en una solución siruposa de goma arábiga. Extraída la pieza de la goma se sumergirá, lo menos por 24 horas, en alcohol fuerte de 40°, donde adquirirá gran consistencia. Este endurecimiento es debido á la coagulación por el alcohol de la goma difundida en el espesor de la pieza, induración que se añade á la que el alcohol determina por sí en todos los tejidos, apoderándose de su agua de imbibición.

Ciertos tejidos (las arterias, los músculos, los tendones, la córnea, etc.), pueden también endurecerse por la desecación sin que con este procedimiento, un poco perturbador, sean de temer graves desórdenes. En general, soportan bien este tratamiento (desecación rápida al aire libre) las fibro-células, el tejido conjuntivo y el elástico; pero los tejidos más delicados, el epitelial, nervioso, glandular, etcétera, no se prestan á él sino á costa de gravísimas alteraciones. Los cortes practicados en los tejidos desecados deben ser extremadamente finos, porque después, cuando hidratados en un líquido colorante, aumentarán considerablemente en espesor. Y cosa singular, los tejidos así tratados, no pierden sus habituales afinidades para con

las materias colorantes, y los hay como el elástico y el de fibra lisa que conservan perfectamente su aspecto normal, experimentando con la hidratación algo así como una resurrección morfológica que recuerda la de los kolpodos y tardígrados.

Pero hay tejidos blandos ó tan vellosos y esponjosos que ni aun por la goma y el alcohol adquieren la necesaria consistencia para la microtomía; en tal caso deberá recurrirse al relleno de los huecos y desigualdades del tejido á beneficio de una materia solidificable que generalmente es la *celoidina* ó la *parafina*.

Como el empleo de estas materias de inclusión es hoy tan general, pues se aplica (especialmente la celoidina) á todos los tejidos blandos, cualquiera que sea su naturaleza, convendrá detallar el *modus operandi*.

Inclusión en celoidina. La celoidina es una especie de colodión seco, de color ambarino, que se disuelve lentamente en una mezcla, á partes iguales, de éter á 65° y alcohol de 40°, ó absoluto. Algunos proponen la *fotoxilina* que se disuelve más rápidamente en la mezcla alcohólico-etérea; pero no posee ventajas sobre la celoidina, si hemos de juzgar por propias experiencias.

La solución de celoidina debe tener consistencia de jarabe espeso. En ella permanecen uno ó varios días las piezas; después son abandonadas por 24 horas en alcohol de 36°, ó cloroformo puro. Estos líquidos roban el éter de la celoidina que adquiere una consistencia semejante al caoutchouc.

Antes de incluir las piezas, deben venir del alcohol, y se supone que han sido preventivamente fijadas. Para mayor claridad, hé aquí la marcha de las operaciones necesarias á una buena inclusión:

1. Los trozos de tejido ó neoplasia, de un espesor que no pasará de un centímetro (la anchura es indiferente), permanecerán 24 horas en una mezcla de éter y alcohol.

2. Después se sumergirán, por 24 á 48 horas ó más (según el espesor de las piezas), en una primera solución de celoidina al 2 por 100.

3. Durante 2, 3 ó más días, atendido el volumen, se empaparán las piezas en una segunda solución de celoidina al 5 ó más por 100. Este líquido debe tener consistencia de espeso jarabe.

4. Extraída la pieza de la celoidina, se montará inmediatamente

(evitando la desecación del vehículo) sobre un corcho limpio y seco, ó sobre un trozo de madera. Pegada á tal soporte, quedará expuesta al aire, durante algunos minutos, á fin de que se condense un tanto más la celoidina envolvente.

5. Los corchos ó maderas con los objetos pegados se introducirán en un frasco de boca ancha que contenga alcohol de 36°. Aquí permanecerán las piezas (que deben quedar envueltas por el alcohol) unas 24 horas.

6. Puesta la pieza con su soporte de corcho en la pinza portaobjetos del microtomo, se procederá á seccionarla, cuidando lubrificar la navaja con alcohol de 36°.

7. Los cortes serán recogidos en agua, donde permanecerán hasta el momento de ser teñidos. Si la tinctión debiera realizarse al cabo de dos ó más horas, la conservación de los cortes en el ínterin debe efectuarse en alcohol de 36°.

8. Coloración de los cortes en litiocarmín, carmín aluminoso, hematoxilina, etc. (véase más adelante).

9. Lavado de los cortes.

10. Deshidratación en alcohol.

11. Aclaramiento en la esencia de clavo (para quitar la celoidina) ó en la creosota (para conservar la inclusión).

12. Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Observaciones. Este método de inclusión es aplicable á todos los tejidos normales sin escepción, aun los más duros, á condición de estar decalcificados. Pero donde sus ventajas son verdaderamente preciosas, es en la ejecución de cortes finos de los embriones y del globo ocular. La circunstancia de que los cortes pueden fácilmente manejarse en su traslación de un líquido á otro gracias al limbo de celoidina que les rodea, la perfecta elasticidad de los mismos y la falta de propensión á enrollarse, son propiedades que colocan el método á la celoidina por cima de todos los demás.

El tiempo necesario al englobamiento podrá abreviarse mucho si las piezas son muy pequeñas (3 ó 4 milímetros de espesor).

En tal supuesto, cabe practicar todas las operaciones de la inclusión en unas 12 ó 14 horas, pudiendo prescindirse del primer baño de éter y alcohol, y aun de la primera solución de celoidina.

Inclusión en parafina. Mediante el encastramiento en parafina

los tejidos adquieren una consistencia tal, que es cosa fácil la ejecución de cortes de menos de 3 μ de espesor. Pero tan notable acrecentamiento de dureza resulta dañoso en muchos tejidos de suyo firmes como el cartílago, el tendón, el cartílago en osificación, la piel, en fin todas las tramas orgánicas ricas en fascículos conectivos ó en materias amorfas algo consistentes. En cambio, la parafina presta magníficos servicios en las secciones finas de embriones, larvas de urodelo (salamandra, tritón, galipato, etc.), cordones nerviosos, intestino, ovario, glándulas y tejido muscular.

Este método consiste substancialmente en deshidratar primeramente la pieza que se quiere encastrar, penetrarla luego con un disolvente de la parafina, y aseguida por esta misma substancia liquidada á la estufa. Cuando la pieza está fría, se reduce á cortes finos, que se fijan sobre un porta-objetos, donde á beneficio de la esencia de trementina ó xilol, se privan de la materia de inclusión.

Hé aquí detalladamente la marcha de las operaciones:

1. Las piezas, convenientemente deshidratadas y fijadas, se colocarán en una mezcla, á partes iguales, de alcohol y cloroformo. El cloroformo debe echarse después del alcohol, y á favor de una pipeta que penetrará hasta lo más hondo, á fin de constituir una capa profunda exclusivamente clorofórmica. En cuanto las piezas, que se mantendrán algún tiempo entre las dos zonas de alcohol y cloroformo, desciendan del todo, pueden trasladarse

2. Al cloroformo puro, donde quedarán por 6 á 24 horas.

3. Del cloroformo se transportarán á una solución concentrada de parafina en cloroformo, donde se abandonarán por 6 á 24 horas.

4. Después se conducirán á un baño maría (1) que contenga parafina derretida, y á temperatura apenas superior al punto de fusión. Aquí permanecerán según las dimensiones, desde 8 horas á 2 ó 3 días.

5. Extraída la pieza, se enfriará repentinamente para que la materia de inclusión se solidifique en cristales finísimos (una solidificación lenta da cristales espesos que estropean los elementos); luego se montará en un bloque de parafina, al cual se pegará mediante un

(1) Utilízase de preferencia el baño maría de Giesbrecht ó de Nápoles, el cual está provisto de termo-regulador de mercurio, termómetro, etc. Su precio viene á ser de 80 á 90 francos.

escalpelo caliente; terminando la operación, recubriendo la superficie de la pieza con una capa de parafina de 3 ó 4 milímetros de espesor.

6. Antes de poner la pieza en el microtomo, se tallará en cuadradillo, procurando que una de las caras se dirija hacia adelante. El filo de la navaja deberá ser paralelo á dicha superficie, es decir, perpendicular á la resbaladera; disposición que favorece singularmente la obtención de series ó cintas de cortes.

7. Los cortes se llevan á un porta-objetos, se lavan con esencia de trementina ó xilol para quitarles la parafina, y se montan al bálsamo. Se supone, naturalmente, que la pieza fué teñida en masa antes de la inclusión. Ya veremos luego cómo se logra el teñido individual de los cortes.

Observaciones. A. El cloroformo y la solución de parafina en cloroformo se emplean, antes de la inmersión en el baño de parafina, para facilitar la penetración de ésta en la trama del tejido. Pero pueden utilizarse con tal fin todos los disolventes de la parafina: la esencia de trementina, la esencia de clavo, la esencia de cedro, el xilol, el petróleo, el toluol, etc. El modo de empleo de estos agentes será igual que el del cloroformo.

B. Los cortes de la parafina tienen, á veces, tendencia á arrollarse, imposibilitando el logro de las series. Los remedios propuestos son muchos. Hé aquí algunos:

Mecánicamente, se evita dicho enrollamiento, superponiendo á la pieza, suavemente y mientras se corta, un pincel ancho y flexible. La navaja pasa entonces por debajo de éste y el corte queda plano.

Se aconseja también tallar en prisma triangular de arista aguda anterior, el bloque de parafina; con lo que, si el corte se arrolla en espiral, podrá desarrollarse á un suave calor en el porta-objetos, teniendo la precaución de poner el lado ancho y la base de la espiral hacia abajo.

Un proceder que, para pequeñas piezas nos ha dado resultados, es formar la costra exterior de parafina de capas alternadas (por sumersión y rápido enfriamiento de la pieza) de parafinas dura y blanda.

Pero el mejor remedio es usar una parafina cuyo punto de fusión guarde relación con la temperatura del ambiente. Bajo las altas tem-

peraturas del verano (25 á 30°), convendrá una parafina que funda á 55°. En pleno invierno (10 á 12°) se preferirá la parafina que funda á 45°. Finalmente, con temperaturas de transición (18 á 22°) se ensayarán con ventaja parafinas de punto de fusión de 48 á 50°, ó mezclas, previamente ensayadas, de parafinas dura y blanda. El punto de fusión de una parafina puede exaltarse con la cocción prolongada.

No es indiferente el empleo de cualquier microtomo cuando se trata de cortar tejidos incluídos en parafina. Es preciso echar mano solamente de aquellos microtomos cuyo tornillo micrométrico consienta la determinación de espesores, por lo menos de tres milésimas de milímetro; y se rechazará al efecto todo instrumento en que la navaja no pueda colocarse perpendicular á su marcha; pues es cosa probada, que el enrollamiento de los cortes es menos frecuente cuando se corta de un modo perpendicular á la dirección del movimiento de la navaja, que cuando se secciona por el proceder ordinario, es decir, oblicuamente. Los modelos de Thoma-Jung, los actualmente fabricados por Becker de Göttingen, con movimiento automático de la navaja, y particularmente el microtomo automático de precisión llamado de Minot, fabricado en Leipzig por Zimermann, llenan cumplidamente las condiciones requeridas.

Seriación de los cortes á la celoidina.

Los cortes á la celoidina podrán seriarse, con solo recojerlos en una sucesión ordenada de pocillos de porcelana como los que utilizan los acuarelistas. En cada pocillo sufrirá el corte todas las operaciones de teñido, lavado, deshidratación, aclaración, etc., sin confusión alguna, con tal que los pocillos estén numerados.

Cuando los cortes son 1, 2 ó 3, no hace falta utilizar ningún proceder de adherencia al porta-objetos. Teñidos, deshidratados y aclarados se lubrifican en una gota de bálsamo y se cubren con una laminilla.

Pero si los cortes son pequeños y numerosos, y se desea montarlos ordenadamente en un solo porta-objetos, cabrá utilizar el artificio siguiente: aclarados y ordenados convenientemente sobre el cristal, se mojan con bálsamo al xilol á poca concentración; cuando,

transcurrido un cuarto de hora, la capa de fijativo esté casi seca (debe cubrir los cortes), ya no habrá inconveniente en protejer el preparado con el cubre-objetos lubrificado en bálsamo ordinario. La presión de la laminilla no desarreglará las secciones, porque el nuevo líquido conservador será incapaz de reblandecer la costra de fijativo.

Para series largas y cuidadosas, en vez de los procederes dichos, debe preferirse el método de Weigert, á saber:

1. Conforme se obtienen los cortes, se van colocando, empapados en alcohol de 36°, sobre una hoja de papel *closet,* donde, á prevención, tendremos marcado el comienzo de la serie.

2. El papel (siempre húmedo con alcohol flojo), con los cortes hacia abajo, se coloca sobre una lámina de cristal colodionada, como las que emplean los fotógrafos para dar el brillo. Se aprieta el papel sobre el colodión, y los cortes se adhieren en cuanto aquel se despega.

3. El cristal y los cortes (que no deben secarse) se cubrirán de una nueva capa de colodión, la cual se dejará coagular durante algunos minutos.

4. Puestos los cristales en el agua (antes de secarse el colodión), se desprenderá fácilmente la película de colodión con todos los cortes seriados, pudiéndose ya con toda seguridad ejecutar en ella, como si se tratase de un solo corte, todas las operaciones ulteriores de coloración, deshidratación, aclaramiento y montaje. La esencia para aclarar será la creosota, que transparenta mucho y no ataca la celoidina.

Seriación de los cortes á la parafina.

Con los microtomos automáticos llamados de Minot y de Cambridge, se obtienen fácilmente, si la parafina posee la debida consistencia, cintas de cortes, que se pegan al porta-objetos á beneficio de uno de los líquidos siguientes:

Licor de Schallibaum:

Colodión normal.	1
Esencia de clavo.	3

Con un pincel se lubrifica, en capa delgadísima, el porta-objetos. Este licor tiene la propiedad de no secarse á la temperatura ordinaria, y de coagularse rápidamente. Fijadas las series llévase la preparación á un baño maría (á 50° ó 60°) donde, á la media hora, se habrá evaporado la esencia y endurecido la capa de colodión.

Ulteriormente (y en caliente) se extrae la parafina con la esencia de trementina, y se cubre el preparado con una laminilla untada de bálsamo.

Fijador al lacre. Disuélvase á saturación, lacre en alcohol de 40°; al cabo de algunos días, el bermellón se precipita, y el líquido claro, puesto á evaporar, abandonará el lacre puro casi incoloro. Se disuelve la resina así lograda (al 10 %) en creosota, y obtendremos un licor que, usado en las mismas condiciones que el de Schallibaum, fijará bien las series. La creosota desaparecerá en la estufa, quedando el lacre sólido adhiriendo la preparación. Los cortes deben estar teñidos á prevención (véase más adelante, teñido en masa), pues el alcohol necesario á las coloraciones en porta-objetos disolvería el lacre.

Fijador á la albúmina. Mézclese una parte de albúmina con otra de glicerina. Con el licor resultante se moja el porta-objetos y se arreglan las series. Luego llévase el preparado á la estufa (á 60°), donde las series quedarán fijas por solidificación de la albúmina.

Membranas.

Las membranas cuando son delgadas no reclaman la práctica de cortes para ser estudiadas con provecho; constituyen en realidad excelentes cortes naturales. Unicamente es de necesidad estirarlas y aplanarlas sobre el porta-objetos por medio de las agujas. Esta pequeña maniobra se facilita mucho si, en lugar de practicar las tracciones al principio, cuando el preparado está muy húmedo, se ejecutan algo después, en ocasión en que han comenzado á secarse y adherirse al cristal los bordes de la membrana. En tal caso, la operación de la distensión se verifica con gran sencillez, y el preparado queda tenso y fijo, y al abrigo de las retracciones ocasionadas por los líquidos colorantes en los tratamientos subsiguientes. Este sencillo *tour de main* es lo que Ranvier llama *extensión por la semidesecación*.

SECCIONES EN TEJIDOS CONSISTENTES.

Tejidos hay cuya consistencia natural es muy á propósito para la ejecución de cortes finos; tal sucede con el cartílago, las uñas y los pelos, éstos previamente reunidos por una materia sólida. No concurren tan buenas condiciones en el hígado y tejidos fibrosos, si bien se logran á veces excelentes cortes haciendo uso de navajas muy afiladas. Las secciones en el cartílago fresco son tanto más de apreciar cuanto que nos permiten estudiar el tejido vivo en su disposición fisiológica normal, al abrigo de las alteraciones ocasionadas por los agentes indurantes.

SECCIONES EN TEJIDOS PÉTREOS.

Dos procedimientos existen para la ejecución de cortes en el hueso, diente, etc.

1.° Ejecución de secciones con la navaja, previo reblandecimiento del tejido en los ácidos (véase reactivos ablandantes).

2.° Sierre del hueso fresco ó macerado, con adelgazamiento subsiguiente de las secciones.

El primer proceder es de necesidad en el estudio de las células del hueso fresco, en el examen de las fases evolutivas del cartílago de osificación, en las calcificaciones de las neoplasias, etc.

El segundo es indispensable para la observación de las partes duras del hueso y sus múltiples cavidades, conductos de Havers, osteoplasmas, etc. Hé aquí este último proceder de sección: comiénzase por separar á favor de una sierra-pelo de relojero, una laminilla de la diáfisis de un hueso bien seco y de largo tiempo macerado. El corte así obtenido, aunque traslúcido, no será transparente; para darle la delgadez y diafanidad indispensables á la inspección micrográfica, se trasladará á una piedra fina de afilar, (como las que usan los peluqueros), donde se desgastará pacientemente por ambas superficies, hasta que resulte casi invisible por lo delgado. La operación del desgaste se verificará en alcohol, en cuyo líquido se lavará la laminilla para dejarla secar al concluir la maniobra. Más adelante expondremos la manera de terminar la preparación.

El *modus faciendi* descrito es igualmente aplicable á todos los tejidos duros, al marfil, las calcificaciones y osificaciones patológicas, etc., excepto el esmalte, cuya dureza es tal que raya el acero. Para serrar el esmalte, hay que disponer de una sierra de agua y arena por el estilo de las que usan los aserradores de mármol ó el aparato que utilizan los petrógrafos. En su defecto, no nos queda más recurso que desgastar, á fuerza de tiempo, sobre la muela de un vaciador, el diente que debemos reducir á láminas. Para que la maniobra no sea demasiado molesta, una vez limado el diente á la mitad, se adhiere la superficie obtenida á un trozo de madera á favor del bálsamo del Canadá seco y recién liquidado al calor. De esta suerte podrá sin embarazo cogerse el diente durante el desgaste del lado opuesto.

SECCIÓN CUARTA.

CONSERVACIÓN DEFINITIVA DE LAS PREPARACIONES HISTOLÓGICAS.

CAPÍTULO I.

Las preparaciones micrográficas son la prueba de las doctrinas histológicas, el argumento supremo á que se apela en las cuestiones litigiosas, y el único testimonio que dá fé de nuestros descubrimientos; de aquí la necesidad imprescindible de conservarlas para que en todo tiempo abonen nuestras opiniones y formen las de los otros.

Los conocimientos de un histólogo se miden por el número y calidad de sus preparaciones personales; pues en la histología como en todas las ciencias experimentales, sólo el que tiene personal experiencia de los fenómenos objeto de su estudio, sólo quien se ha impresionado una y mil veces con la realidad de las cosas, puede contar con la fidelidad de su memoria.

En la conservación de las preparaciones conócense dos métodos: 1.º el de inclusión en los vehículos acuosos, y 2.º la conservación en medios resinosos. Conviene estudiar aparte estos dos métodos porque varía en ellos el *modus operandi*.

1.—**Conservación en medios acuosos y glicerinados.** Empléase con tal objeto los líquidos de Pacini, la gelatina glicerinada, el líquido de Farrant, la glicerina anhidra y la levulosa.

La *glicerina* debe ser anhidra, y perfectamente neutra. La menor cantidad de ácido podría dañar á la conservación de ciertas coloraciones, particularmente las obtenidas con hematoxilina. A veces, y

tratándose de objetos colorados en picro-carminato, será conveniente asociar á la glicerina una mínima cantidad de ácido fórmico (1 °/o).

La *levulosa* posee un índice de refracción superior á la glicerina y debe preferirse á ésta en algunos casos, sobre todo, para la conservación de preparados teñidos por las anilinas, cuyos colores respeta más que aquella substancia. Como con la glicerina, los cortes pueden ser trasladados á la levulosa, desde el agua.

En estos vehículos, así como en la solución de Farrant, deberán montarse todas las preparaciones cuyos detalles delicados exijan, para su cabal distinción, un líquido de índice menor que el del bálsamo del Canadá.

La manera de usar tales substancias es sencilla. Basta colocar la preparación en una gota de vehículo entre el porta y cubre-objetos, y cementar luego el contorno de éste para que quede fijo al porta-objetos. A este fin se usa, sobre todo en Francia, el proceder de Ranvier, que consiste en fijar primero el cubre-objetos á beneficio de la parafina derretida por contacto con una varilla metálica caliente, acabando después la cementación recubriendo la parafina y parte de los dos cristales con una solución espesa de lacre en alcohol. Cuando el lacre está seco, resulta una costra dura y muy adherente.

Hay otro método más complicado, pero más seguro, de encerrar las preparaciones. Aunque la costumbre, cada vez más extendida hoy, de montar éstas en bálsamo, ha hecho olvidar un tanto este proceder, creemos, sin embargo, que merece todavía describirse, por cuanto es el que permite montar más sólida y elegantemente todo objeto que desee conservarse en glicerina.

Consta este proceder de tres operaciones: 1.ª hacer la célula; 2.ª encerrar la preparación, y 3.ª ejecutar la cementación.

a.—*Hacer la célula.* Para ello sujétase un porta-objetos en la platina del aparato giratorio (Fig. 4). En movimiento la platina, tómese una gota de cemento semi-líquido y aplíquese con decisión sobre el cristal al lado del centro; el resultado será la formación de un círculo de cemento en torno del centro del porta-objetos, cuyo espesor variará con la presión del pincel y la cantidad de betún. Todo el secreto de este *tour de main* que tanto embaraza á los principiantes, estriba en usar el cemento en su punto de consistencia. Si ésta resulta excesiva, la célula se obtiene irregular y llena de grumos,

si escasa, la fuerza centrífuga del aparato hace estallar el contorno exterior de la célula en multitud de gotas divergentes. El cemento preferible es el betún de Judea mezclado á la mixtión de los doradores y liquidado en la esencia de trementina. El remitido por las casas de objetos micrográficos es sobrado espeso y hay que diluirlo en la esencia.

b.—*Inclusión del preparado.* Una vez seca la célula (lo que se consigue con el betún á los dos ó tres días por término medio),

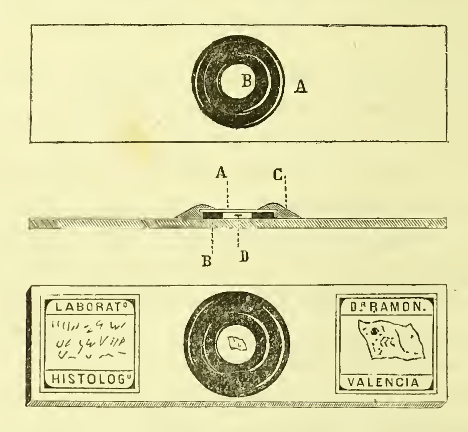


Fig. 21.—La figura más superior representa un porta-objetos provisto de la célula de betún, cuyo centro es B. La segunda es un corte vertical de una preparación, comprendiendo el cubre-objetos A, la célula C, el vehículo conservador y la preparación D. La más inferior, figura una preparación concluida vista de frente: á la derecha contiene en una etiqueta el mapa en miniatura del corte con la indicación, bajo la forma de un punto negro, de la zona más interesante.

póngase una gota del vehículo en el centro de ella, y después, mediante una paleta ó delgadas pinzas, el corte de tejido, y por último, cúbrase el todo con una laminilla de cristal perfectamente limpia. Esta última maniobra exige algunas precauciones para que no queden en la preparación burbujas de aire. Evítase este accidente 1.º procurando que el líquido conservador bañe en abundancia y por ambas caras la preparación; un punto no mojado daría asiento con seguridad á una burbuja; 2.º el descenso de la laminilla se verificará oblicuamente, de suerte que toque antes un lado que el otro de la célula; operando así se fraguará una diminuta ola de líquido conservador que,

arrancando del primer punto tocado, irá arrastrando en pos de sí el aire de la preparación, imposibilitando la formación de burbujas. Si las preparaciones son excesivamente pequeñas, como un óvulo, una célula nerviosa, etc., se corre grave riesgo durante la anterior maniobra, de que el objeto sea arrastrado fuera del centro de la célula y vaya á aposentarse en sus paredes. Como quiera qne esta proyección del preparado depende de la abundancia de vehículo, el remedio es obvio; consiste en poner en la célula tan solo la cantidad extrictamente precisa del líquido conservador; de este modo, aunque al descender la laminilla los objetos incluídos se disloquen, nunca podrán llegar en su huída más que hasta el límite interior del limbo de cemento.

c.—*Cementación definitiva.* Encerrada la preparación, se comprimirá ligeramente el cubre-objetos, á fin de rechazar el vehículo sobrante; se limpiarán bien los dos cristales, y se ejecutará la cementación definitiva, comprendiendo en una banda gruesa de betún los contornos de la célula y del cubre-objetos. Esta operación se efectuará también con la rueda giratoria. Véase la figura 21, donde, para mejor comprensión de estas operaciones, dibujamos un corte vertical de una preparación terminada.

El más grave obstáculo con que los principiantes tropiezan durante las anteriores maniobras, consiste en que, al efectuarse la limpieza del exceso de vehículo, ó al ejecutar la cementación, se desliza la laminilla de cristal y se descubre el objeto, obligando á empezar nuevamente.

Este accidente dimana de que el espesor de la preparación es mayor que el de la célula; porque cuando los espesores ó son iguales, ó es inferior el del corte histológico, no solo se evita el expresado accidente, sino que, por el contrario, á poco que la laminilla se apriete, esta se adhiere con tal fuerza al porta-objetos, que puede sufrir impunemente los frotes y colisiones más grandes sin dislocarse, cuanto más las frotaciones suaves del lienzo de limpieza. La desigualdad de la célula, así como el acabalgamiento sobre sus paredes de una parte de la preparación ocasionan también el referido percance. Expresar estas causas es indicar sus remedios.

Ejecutada la cementación definitiva, se dejarán secar los cristales sobre una tabla nivelada, y se vigilarán por unos días, volvién-

dose á cementar, si acaso la glicerina ó el líquido conservador hiciera hernia por algún pequeño resquicio.

Para reforzar la cementación del betún de Judea, que á veces resulta deficiente, hace tiempo que nosotros empleamos el *gold-size* ó mixtión de los doradores mezclada, á partes iguales, con los colores al óleo de los pintores, colores que, como es sabido, hállanse en el comercio en tubos de estaño y mezclados al aceite de nueces.

Este cemento seca con facilidad en dos ó tres dias, y forma un barniz coloreado, brillante, tenaz y nada quebradizo. Desde que lo usamos no hemos visto salir más la glicerina de las preparaciones, ni evaporarse los vehículos acuosos salinos, cosa corriente con muchísimos cementos. Posee además la ventaja, un tanto fútil, pero que no dejará de apreciarse por los aficionados á la estética, de poder prepararse de todos los matices que se deseen.

Por último, el barniz copal, el de pintores al óleo, el cemento blanco de Ziegler, la *glue* inglesa formada por la laca disuelta en la nafta, la de gutta-percha en el súlfuro de carbono, el *caoutchouc* disuelto en la bencina anhidra, etc., pueden aprovecharse con ventaja en caso de necesidad.

2.—**Conservación en medios resinosos.** El principal vehículo resinoso es el bálsamo del Canadá ó trementina del Canadá, producida por el *Abies balsámea.* Es un líquido de consistencia de jarabe, de color amarillento, turbio cuando reciente y límpido cuando antiguo, y cuyo índice de refracción es 1',82. Es soluble en el cloroformo. El calor lo priva del aceite esencial y lo reduce á la condición de resina seca, liqüidable por el calórico.

El bálsamo del Canadá se usa como medio conservador de las preparaciones demasiado opacas, ó por propia naturaleza del tejido (médula, cerebro), ó por demasiado espesor de los cortes (inyecciones). Como el índice de refracción del bálsamo es muy alto, casi igual al de los elementos anatómicos, los cortes adquieren transparencia tal, que sólo se distingue en ellos lo fuertemente teñido. Por esta razón, es el bálsamo un vehículo precioso para la conservación y estudio de las inyecciones, por cuanto la visión correcta de las redes exige la absoluta diafanidad de las substancias intercalares. Siempre, pues, que nos moleste en una preparación un objeto no teñido, puede sacrificársele ópticamente por el bálsamo, sacrificio

que no tiene los inconvenientes de la destrucción mecánica, pues que las partes coloreadas no sufren modificación ninguna en sus relaciones.

De tres modos puede usarse el bálsamo: 1.° blando ó natural; 2.° seco ó sin aceite esencial, y 3.° disuelto en el xilol. En cualquiera de estas formas, la preparación destinada á montarse en el bálsamo deberá previamente deshidratarse por varios lavados con alcohol absoluto, é impregnarse después en esencia de trementina, y aun mejor en la de clavo, á fin de que adquiera perfecta transparencia.

a.—*Uso del bálsamo tierno.* Se toma una gota de esta substancia, se coloca en medio de un porta-objetos, se calienta ligeramente para que se ablande, sumérgese en ella la preparación y se termina cubriendo el todo con una laminilla y ejerciendo suave presión. Estas preparaciones son muy buenas; los tejidos no sufren alteración; pero la desecación del bálsamo es obra de dos ó tres meses, tiempo harto largo para esperar el examen y manejo de un preparado.

b.—*Uso del bálsamo seco.* El bálsamo seco, liquidado á la lámpara, tiene la preciosísima ventaja sobre el tierno, de permitir la conservación y terminación de un preparado en algunos minutos. Mas este método de inclusión sólo con grandes precauciones podrá utilizarse en preparaciones delicadas, porque al calentar el bálsamo para liquidarlo, los cortes se arrollan y retraen, y aun pueden, si el calórico es excesivo, destruirse por completo. Mas como tal percance no es de temer en tejidos tan resistentes como el diente y el hueso, á éstos especialmente se aplica el referido proceder.

Esta preferencia del bálsamo seco para la inclusión de los cortes de hueso, obedece también á otros motivos. Sabido es que el hueso macerado está acribillado de cavidades llenas de aire, y es un hecho harto conocido también que el aire incluído en los preparados histológicos aparece de color negro con notable vigor de contorno, circunstancia que favorece especialmente el discernimiento de los detalles estructurales de la trama ósea. De aplicar aquí el bálsamo líquido, claro es que el aire de las lagunas óseas vendría á ser con el tiempo reemplazado por el bálsamo, cuya substancia poseyendo un índice casi idéntico al del hueso, transformaría esta materia en una masa homogénea y hialina.

No así el bálsamo seco. Tratado un corte óseo ó dentario por esta resina derretida al calor, no podrá desalojarse el aire de las criptas del tejido, en el cortísimo tiempo que media entre el comienzo de la impregnación del corte y la solidificación del vehículo por enfriamiento. Y así, al observar el preparado al microscopio, podrán contemplarse los canalículos y osteoplasmas, destacando en negro sobre fondo blanco, con un vigor y corrección de contorno incomparable, lo que se explica bien, recordando que el contorno de los objetos es tanto más obscuro y vigoroso cuanto mayor contraste existe entre los índices de refracción de ellos y del medio que los rodea.

El bálsamo seco tiene una ventaja que no es de despreciar en ciertos casos: la de conservar mucho mejor que los vehículos líquidos ó semilíquidos las coloraciones con las anilinas y hematoxilina, cuya tendencia á palidecer es bien conocida. Particularmente el teñido de los microbios y de las figuras kariokinéticas se conserva de una manera perfecta.

3.—*Soluciones balsámicas.* El bálsamo disuelto en el cloroformo ó en el xilol es de una aplicación más sencilla que la explicada anteriormente, pues todo se reduce á sumergir la preparación en una gota del vehículo, cubriéndola con una laminilla de cristal.

La *resina d'Amar* disuelta en xilol á gran concentración es también un excelente vehículo, preferible en muchos casos al bálsamo por su color más claro y perfecta transparencia.

Es condición esencial usar soluciones balsámicas ó resinosas muy espesas, pues de otro modo, en cuanto la acción del aire endurece el vehículo, éste disminuye de volumen y el preparado se llena de burbujas. Igual efecto producen, aun con bálsamos espesos, los cortes desigualmente gruesos que fueron comprimidos fuertemente para prestarles delgadez ó planimetría artificiales.

El bálsamo seco, es decir, privado de su aceite esencial, hállase en el comercio de objetos micrográficos. Pero podemos obtenerlo fácilmente del tierno ú ordinario, ya sometiéndole por varias horas á la acción de un baño maría, ya evaporándolo al aire en capas delgadas.

CAPÍTULO II.

Cuerpos extraños de las preparacionbs histológicas.

Durante el manual operatorio de toda preparación se depositan en el vehículo conservador y en el corte histológico multitud de partículas extrañas, fibras de lino, algodón, lana, gérmenes atmosféricos, etc. Algunas veces los líquidos colorantes en que las preparaciones han sido maceradas contienen micro-organismos; el picro-carminato, la goma arábiga suelen alterarse por la presencia de mohos, que más tarde vendrán á formar parte de la preparación. Los sueros artificiales y casi todas las soluciones de materias orgánicas utilizadas en la técnica, sin exceptuar el curare (empleado para inmovilizar á las ranas), encierran gran número de microbios.

Aparte de esto, las preparaciones contienen también burbujas de aire, gotas de grasa, cristales de margarina y otras impurezas que el micrógrafo neófito debe aprender á distinguir de los corpúsculos normales de los tejidos si no quiere exponerse á groseros errores.

A fin de evitar estas sencillas equivocaciones, vamos á referir en breves líneas los caracteres distintivos de los cuerpos extraños que principalmente se asocian, á despecho del micrógrafo, á los elementos normales del tejido preparado.

1.—**Burbujas de aire.** (Fig. 22, A) Se presentan bajo la forma de esferas rigurosamente contorneadas y en las que se distinguen, cuando el enfocamiento es ecuatorial, un centro blanco y brillante y un limbo ó anillo obscuro dividido en zonas por finas líneas brillantes; anillo cuya anchura aumenta con el índice de refracción del medio en que se halla flotando la burbuja. Así en el agua las burbujas tienen una banda negra poco extensa, es mayor en la glicerina, y notabilísima en el bálsamo; en este último menstruo la burbuja aparece como una esfera negra con un pequeño punto brillante en el centro.

El aspecto negro del contorno de las burbujas dimana de que, por virtud de su forma esférica y de la diferencia de los índices de refracción, casi todos los rayos que la alcanzan, excepto los centrales, son ó reflejados ó desviados fuertemente, de suerte que no pueden llegar al ojo del observador, comportándose de igual manera que los cuerpos opacos para los efectos de la visión micrográfica.

La forma de las burbujas puede variar según la compresión sufrida por el aire, pero en todo caso se nos revelarán con la banda obscura característica.

2.—**Las gotas de grasa,** (fig. 22, B), se dan á conocer por su color amarillento y por un aspecto semejante al de las burbujas de aire, aunque no tan acentuado. Así, la banda obscura periférica es muchísimo más delgada, y por tanto la extensión del núcleo brillante mucho mayor. Frecuentemente, el contorno está adornado de zonas irisadas. Para diferenciar un corpúsculo grasiento de una burbuja, basta subir ó bajar el objetivo. Si bajando el objetivo muestra el corpúsculo un centro brillante y una ancha banda obscura periférica que no se desvanece, se trata indudablemente de una burbuja de aire; si en iguales condiciones la delgada franja obscura desaparece contorneándose el corpúsculo de una finísima línea brillante que reemplaza al limbo obscuro, es indudablemente una gota de grasa.



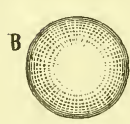


Fig. 22.—A. Burbuja de aire.—B. Gota de grasa.

3.—**Los filamentos de algodón.** Son cintas largas, frecuentemente coloreadas, procedentes de los tejidos del traje del operador ó de los trapos usados en las maniobras de limpieza: se presentan casi siempre retorcidos, sin estructura aparente, y si puede observarse uno de sus extremos, se echa de ver que ofrecen un conducto aplanado.

Tratados por ácido sulfúrico primero, y por agua iodada después, adquieren la tinta azul característica del yoduro de celulosa ó de almidón (Robin).

4.—**Las fibras de lino y de cáñamo** se distinguen de las de algodón en que ofrecen, de trecho en trecho, tabiques transversales, indicio del punto de unión de las células alargadas que las constituyen. Las fibras procedentes de las ropas usadas no conservan cla-

ramente el aspecto tabicado, apareciendo descompuestas en fibrillas todavía más pequeñas, especialmente en sus extremos y en sus dobladuras ó inflexiones.

5.—**Los pelos de lana** se distinguen por lo gruesos, por ser cilíndricos y porque presentan en su superficie una capa de células escamosas imbricadas como las tejas de un tejado.

6.—**Los humanos** muestran igual disposición, ofreciendo además un conducto medular lleno de granulaciones negruzcas.

7.—**Los de conejo** se dan á conocer por la existencia de un conducto medular segmentado por tabiques transversales muy próximos. Sobre este tipo están construídos los del gato, el ratón y muchos roedores.

8.—**Los filamentos de seda** se distinguen perfectamente por su perfecta diafanidad, que les presta aspecto de hilos de cristal, la pureza del contorno, la homogeneidad del color y la ausencia de todo detalle.

SEGUNDA PARTE.

ANATOMÍA GENERAL.

CAPÍTULO I.

Concepto y división de la anatomía general.

La *Anatomia* es la ciencia biológica que trata de la materia y de la forma, tanto interior como exterior de los seres vivientes.

Estudia la Anatomía la estática de los organismos; del estudio de la máquina en acción se encarga otra institución biológica, la Fisiología.

Comprende la Anatomía muchas ramas importantes: *Anatomia vegetal* ó *Fitotomia, Anatomia animal* ó *Zootomia, Anatomia comparada,* que estudia las diferencias que distinguen los seres vivientes, *Anatomia filosófica,* que indaga las analogías estructurales de los organismos; pero la división más natural y á la vez más importante es la de *Anatomia general* y *Anatomia descriptiva*.

Trata la Anatomía descriptiva de las partes *especiales* á cada sér, de aquellas que, según la frase de Robin, exigen una descripción particular. Estas partes, con fisonomía peculiar y exclusiva en cada organismo, son los órganos y los aparatos.

Por el contrario, la Anatomía general estudia las partes *comunes* dentro de un mismo sér y *generales* á muchos organismos.

Pongamos un ejemplo: Los huesos, los músculos, los vasos, etc., pueden considerarse bajo dos aspectos: 1.º de un modo individual y biográfico, es decir, estudiando uno por uno los huesos, los múscu-

los, los nervios, etc., para venir en conocimiento de los caracteres que los distinguen de los demás de su especie, y éste es el método de la Anatomía descriptiva; y 2.° buscando en ellos solamente las semejanzas que los enlazan al resto de los órganos de igual naturaleza, á fin de comprenderlos en una descripción común, y éste es el método de la Anatomía general. Insistiendo aún en el anterior ejemplo, un hueso, si bien se diferencia *como individuo* de sus congéneres, comparte con ellos muchas propiedades: la estructura íntima ó textura llamada tejido óseo, el material químico que lo construye ó sea la osteina y los fosfatos, y los elementos morfológicos ó células que lo pueblan, etc.

La reunión de todas estas propiedades comunes en un cuerpo de doctrina constituye la Anatomía general. Este concepto ya fué perfectamente comprendido por el ilustre Richat, cuando definió la Anatomía general: «la ciencia que estudia aquellas partes que, una vez conocidas para una región del cuerpo, lo son para todas las demás y aun para la mayor parte de los seres.»

Aunque la designación *general* parece anunciar que esta ciencia se ocupa de conceptos generales, de inducciones científicas, de lo anteriormente expuesto se desprende, que es tan concreta y descriptiva como la Anatomía de este nombre; sin otra diferencia, que, mientras esta describe *partes especiales,* la general describe *partes generales,* disposiciones similares y repetidas en la organización de los seres.

Esta misma fundamental división prevalece en el orden fisiológico; y así hay una fisiología general que estudia el dinamismo de las partes similares, y una especial que estudia los actos de los órganos ó partes especiales.

La división de la Anatomía general es necesaria y lógica consecuencia de su definición. Si esta ciencia estudia las *partes comunes* ó repetidas del sér, bastará que distingamos las varias categorías de *partes generales* en éste comprendidas, para hallar las secciones principales de la ciencia.

Y como puede suceder que unas partes sean *más generales* que otras, cabrá establecer, sin salirnos de nuestro principio, la prelación de las secciones de la Anatomía general, ordenándolas según el criterio de su decreciente generalidad.

En efecto; los primeros materiales de construcción que el análisis nos revela en las masas orgánicas son *los principios inmediatos,* tan generales, que en todos los tejidos se encuentran, y tan sencillos, que casi se confunden con los cuerpos inorgánicos. De la reunión, bajo un molde especial, de muchos principios inmediatos, resultan *las células* ó *elementos anatómicos,* partes notablemente repetidas en el organismo, mas no tanto como las anteriores, porque hay masas orgánicas formadas de principios inmediatos y exentas de elementos anatómicos. En este orden de creciente complexidad y decreciente generalidad, nos conduce el análisis á *los tejidos,* masas formadas por la asociación de las células. Aquí la nota de generalidad mengua notablemente, pues si bien los tejidos se repiten con iguales ceracteres en muchos órganos, hay algunos de éstos que están formados de un sólo y especial tejido, y se conocen seres (los unicelulares) que no los poseen.

De aquí la división de la Anatomía general en

1.ª *Estequiología* ó tratado de principios inmediatos.

2.ª *Elementología* ó tratado de elementos anatómicos.

3.ª *Histología* ó tratado de tejidos.

La primera sección comprende la *materia* general de composición de los seres orgánicos, la segunda y la tercera tratan de las *formas* íntimas (textura) de los mismos.

Como no podía menos de suceder, el orden establecido, según la generalidad decreciente, es también el más didáctico, pues marcha de lo simple á lo compuesto, desde el principio inmediato, dominio rayano de la química inorgánica, hasta el tejido y el sistema anatómico, partes fronterizas de la Anatomía descriptiva.

De las tres secciones que la Anatomía general comprende, la más extensa é importante es la histología. Sin duda, por esto ciertos autores, abusando de los términos, han hecho sinónimas las expresiones *Anatomía general é Histología,* incurriendo en la falta de aplicar al todo el nombre de la parte, incorrección sólo comparable con la de aquellos que, confundiendo el medio con el objeto, prefieren la designación *Anatomía microscópica,* á la de *Anatomía general.* La Anatomía general estudia algo más que los tejidos; abraza también los elementos anatómicos y principios inmediatos. Ni se diga que el conocimiento del tejido supone el examen del ele-

mento y de los materiales químicos que lo integran, pues si un tal examen individual en cada especie histológica se practicara, se daría la prueba de desconocer todo método científico, repitiendo á cada paso y en cada tejido, rasgos generales de los elementos morfológicos y de los principios inmediatos.

Menos aún puede sostenerse la designación de Anatomía microscópica. Con ella desaparece el principio que nos ha servido para sistematizar los conocimientos de esta ciencia, obligándonos á colocar en el tamaño, circunstancia la menos importante de todas, la nota característica de la Anatomía general. Fuera de que si la Histología necesita del microscopio, no expone solamente disposiciones microscópicas, abarca otros caracteres, el color, la densidad, elasticidad, etc.; y bien prueba lo accidental del atributo *dimensión microscópica,* el hecho de que el célebre fundador de la Anatomía general, el insigne Bichat, no hizo uso del microscopio.

En resumen: lo que caracteriza á la ciencia, lo que la informa, no son los medios de investigación, sino el método. Antes de Bichat habíase inventado el microscopio, pero hasta que este autor mostró á los investigadores el método, no hubo verdadera ciencia anatómica general.

Ya hemos expuesto en otra ocasión que los hechos estudiados por la Anatomía general, lejos de reducirse á una sola especie, son comunes á casi todos los animales, y en parte á los dos reinos orgánicos. Hay una particularidad muy digna de notarse, y es que también aquí en la serie sistemática de los seres, se observa aquel carácter de generalidad decreciente de las tres categorías de partes generales antes expuestas. Así, la Estequiología abarca la generalidad de los organismos, pues todos ellos poseen agua, sales, oxígeno, materias albuminoides, grasas, etc., sean animales ó vegetales, ya figuren en la cúspide, ya en los peldaños más bajos de la vida. También los elementos, es decir, los protoplasmas, tienen universal representación en la materia viviente, aunque con mayor limitación, pues hay partes (substancias amorfas) exentas de los mismos. Y por último, los tejidos solo se encuentran en los organismos pluricelulares donde se ha iniciado ya la diferenciación anatómica y la división del trabajo fisiológico. En los tejidos mismos hay categorías de generalidad y de precedencia. El epitelial, el conjuntivo y el muscular, están más generalmente repartidos que el vascular, glandular, nervioso, óseo, etc., que son representaciones de altas diferen-

ciaciones anatómicas, de que sólo gozan los seres más elevados en dignidad vital.

Del concepto de la unidad anatómica de los seres vivientes, derivan importantes corolarios prácticos. Sucede con frecuencia, que la constitución de un tejido es imposible de aclarar en el hombre por causa de la complicación estructural de sus elementos componentes: apelando entonces al examen del mismo tejido más sencillamente estructurado en organismos inferiores, se da muchas veces con la clave del enigma, y los resultados sustanciales obtenidos pueden generalizarse sin temor á los demás animales. Sirva de ejemplo la textura del fascículo muscular, tan fácil de discernir en el insecto y tan difícil en los mamíferos, y la estructura del hígado, de los ganglios linfáticos, etcétera, que ha sido primeramente revelada en los animales.

A veces, las dificultades que detienen al investigador ante una estructura de un organismo superior son de orden puramente técnico, simple cuestión de tamaño. Así, la pequeñez del núcleo y del cuerpo protoplasmático de la mayor parte de los células de los mamíferos, nos impiden el examen de ciertos delicados detalles de textura. En cambio, las grandes células de las larvas de urodelo, de los articulados, y de las *liliáceas* entre las plantas nos brindan, digámoslo así, con el problema resuelto, presentándonos detalles cuya realidad salta á los ojos, imponiéndose aun á los menos expertos y bajo no muy poderosos aumentos.

En la división de la Anatomía general que adoptamos se echan de ver dos vacíos: *la higrología* y *la histología topográfica*.

La higrología es el estudio de los humores del organismo. Divídense éstos en constituyentes, (sangre, quilo, linfa), y productos de secreción. Ofrecen los primeros carácter de generalidad bastante para ocupar por derecho propio un lugar preferente en la Anatomía general, mas de ninguna suerte los segundos. Son éstos producto de la acción fisiológica de las glándulas ó de las serosas, y por lo tanto, partes tan especiales y concretas como lo son los órganos que los elaboran.

En cuanto á los humores constituyentes, (sangre, linfa), deben incluirse, por razón de su universalidad, en el cuerpo de la Anatomía general, pero no en sección aparte, sino asociados á los tejidos, á los cuales los unen importantes atributos.

Como más adelante veremos, lo que caracteriza al tejido no es la consistencia, sino el hecho de estar formado de células yustapuestas que conservan una disposición constante en las partes similares.

Y si la sangre y la linfa están constituídas de elementos cuya disposición es uniforme en todas las partes de la organización donde aquéllas se estudien, claro es que deberán ser consideradas como tejidos. Ni debe detenernos el estado de liquidez de los humores, pues líquida es la materia fundamental de muchas masas orgánicas (humor vítreo, tejido mucoso, tejido conectivo embrionario, etc.), y sin embargo, como tejidos se consideran; cuanto más que no es posible trazar un límite entre los humores y los tejidos, atendiendo solamente al expresado atributo, pues que se enlazan y confunden por suaves gradaciones de consistencia. Recuérdese además, que la sangre es, en un principio, simple diferenciación del mesodermo, que posee substancia fundamental lo mismo que los tejidos de aquella hoja procedentes, que hasta en el estado adulto, sus células dimanan de formaciones conjuntivas (1).

La duda es imposible respecto á la histología topográfica. Esta sección estudia la textura de los órganos y de las regiones, es decir, partes especiales, y siquiera en estas investigaciones se utilicen los mismos recursos que se aplican en la Anatomía general, es evidente que pertenece á la Anatomía descriptiva y topográfica.

(1) El parecido entre la sangre y el tejido conjuntivo es todavía mayor en la sangre coagulada. En ésta la materia fundamental pasa de líquida á sólida, quizás por simples cambios isoméricos, ofreciendo hasta el aspecto fibrilar de los fascículos conjuntivos.

SECCIÓN PRIMERA.

CAPÍTULO I.

Estequiología.

1.º—**Consideraciones generales.** Los principios inmediatos son aquellos cuerpos, ya simples, ya compuestos, á que por medio de recursos puramente físicos ó anatómicos pueden reducirse las masas orgánicas.

La nota distintiva del principio inmediato no está, pues, en su naturaleza química ni en su complejidad, pues los hay simples, (oxígeno, ázoe) y complejísimos (albúmina, fibrina), sino en su carácter de cuerpos separables anatómicamente, sin el concurso de la acción descomponente de los reactivos. Esta última circunstancia se explica bien recordando que los principios inmediatos no forman las masas orgánicas por combinación entre sí, sino por simple mezcla y yustaposición.

Un ejemplo frecuentemente citado (Fort) pondrá en claro el expresado carácter.

La sangre se compone de muchas substancias, albúmina, fibrina, hemoglobina, agua, etc. Para aislar estos cuerpos, no tendremos necesidad de echar mano mas que de medios físicos: la albúmina se apartará por el calor, la fibrina por el batido, la hemoglobina por la congelación y cristalización subsiguiente, el agua por la evaporación, etc. Ahora bien, todos estos cuerpos son principios inmediatos, y de su mezcla en proporciones constantes, resulta el líquido sanguíneo. Sin embargo de que, en general, bastan los pro-

cederes físicos para aislar los principios inmediatos, ocasiones hay en que es forzoso acudir á los recursos ordinarios de la química. Así las sales de los huesos exigen para su separación la descomposición de la osteina por el calor; la elastina se extrae destruyendo primero á favor de los ácidos y álcalis las materias colágenas, etc. Casi toda la química de la célula se funda sobre los cambios que los principios componentes de ésta sufren bajo la acción de los reactivos.

Toda la variedad casi infinita de principios inmediatos, que forman el cuerpo de los animales, resulta de las combinaciones de los siguientes cuerpos simples: Hidrógeno (H^2); Carbono, (C); Nitrógeno, (N); Oxígeno, (O^2); Azufre, (S); Fósforo, (Ph); Cloro, (Cl); Silicio, (Si); Fluor, (Fl); Potasio, (K); Sodio, (Na); Magnesio, (Mg); Calcio, (Ca); Litio, (Li); Hierro, (Fe); Plomo, (Pb); Cobre, (Cu); Manganeso, (Mn).

Las combinaciones en que interviene el carbono, son de ordinario las más complicadas y las que de manera preferente constituyen los seres vivientes. Por lo cual han recibido el nombre de *materias orgánicas*.

La riqueza de los compuestos que el carbono puede formar, se explica recordando su cualidad de tetraatómico, y la propiedad que sus moléculas tienen de combinarse entre sí, originando cadenas moleculares complejas.

2.—**Clasificación de los principios inmediatos.** 1.º—*Clasificación según base fisiológica.* Podría ser aquella en que los expresados cuerpos se ordenaran, atendiendo á su categoría vital, colocando en un 1.er grupo las materias destinadas á la asimilación; en 2.º, las que constituyen parte integrante de los tejidos, y en 3.º, las substancias desasimiladas y consagradas á la eliminación en plazo más ó menos largo. O en otros términos, una categorización semejante á la que con distinto fin establecía Beale: 1.º materias que viven, 2.º materias que han vivido, 3.º materias que vivirán. Mas por desgracia el estado actual de la química biológica no consiente tanta perfección, pues hay cuerpos de los que se ignora si constituyen normalmente el protoplasma ó si son productos accidentales á la vida y destinados á la eliminación; y desconocemos también casi todas las fases químico-evolutivas por las que deben pasar las materias nutritivas

antes de formar parte de los tejidos. De aquí la imposibilidad de la adopción de este principio.

2.° *Clasificación según base química.* Es la preferida por casi todos los anatómicos. Con arreglo á ella, los materiales del organismo se ordenan en clases, según su grado de complejidad, y teniendo en cuenta exclusivamente sus propiedades químicas. Por ejemplo, se forma la primera clase de los principios más simples, los inorgánicos, y la segunda de los más complejos, los orgánicos. Y esta consideración sirve de criterio también en la distribución de los géneros y especies.

Una de las mejores clasificaciones de base química es la de nuestro querido maestro el Dr. Maestre de San Juan, y esta será la que adoptaremos nosotros para la exposición de los principios inmediatos, sin otra modificación que algunas insignificantes adiciones.

Clasificación de los principios inmediatos según Maestre.

- *Materias minerales.*
  1. Cuerpos simples: oxígeno, nitrógeno.
  2. Acidos libres: ácido carbónico, clorhídrico, silícico.
  3. Bases libres: óxido de hierro, óxido de cobre, óxido de manganeso.
  4. Sales: fosfatos, cloruros, sulfatos y carbonatos.
  5. Agua (disolvente general).

- *Materias orgánicas.* .
  - 1. grupo.
    - 1. Alcoholes.
      - Colesterina.
      - Glicerina.
      - Azúcares.. . .
        - Glicógena.
        - Dextrina.
        - Glucosa.
        - Inosita.
        - Azúcar de leche.
    - 2. Acidos.
      - Grasos.. . . .
        - Acético, butírico.
        - Cáprico, capréico.
        - Oléico, esteárico, palmítico.
      - No nitrogenados. . . . .
        - Láctico, paraláctico.
        - Succínico, oxálico, etc.
      - Nitrogenados.
        - Urico, hipúrico, glicocólico, taurocólico, etc.
    - 3. Eteres de la glicerina.
      - Palmitina, oleína, estearina, etc.
    - 4. Amidas.
      - Urea, creatina, creatinina, leucina, tirosina, taurina, glicocola, neurina, xantina, hipoxantina, paraxantina, guanina, alantoina, adenina, colina, etc.
  - 2. grupo. Albuminoides ó protéicas.
    - 1. Albuminoides propiamente dichos
      - Albúmina, fibrina, miosina, sintonina, globulina, caseina, peptonas, plastina, nucleina, pirenina, linina, histon, etc.
    - Substancias colágenas. .
      - Colágena.
      - Acido condrotico, albumoide, etc.
      - Osteina.
      - Elastina.
      - Keratina.
      - Neuro-keratina.
      - Mucina, pseudomucina.
      - Substancia coloide.
    - Materias colorantes. . . .
      - Hemoglobina, hemina, hematina, hematoidina, methemoglobulina, bilirubina, colorante de la orina, indican, melanina.
    - Fermentos.. .
      - Diastasa, pepsina, pancreatina, invertina, etc.

Materias inorgánicas.

A dos clases pertenecen las materias constituyentes del cuerpo de los animales: ó son combinaciones del carbono, ó substancias no carbonadas. Las primeras forman las materias orgánicas, las segundas las inorgánicas.

Hállanse estos últimos cuerpos profusamente esparcidos en el organismo. Bien que acumulados especialmente en ciertas partes como el hueso y el diente, todos los tejidos las ofrecen y en proporciones constantes, como si formaran parte de su especial estructura. Carecen de propiedades vitales, como cuerpos inorgánicos que son; pero poseen atributos físicos y químicos importantes, por los cuales son necesarios á la economía. Entran en el organismo con los alimentos y bebidas y salen de él sin haber sufrido ninguna importante modificación.

La cantidad de materias inorgánicas obtenidas por incineración del cuerpo de los animales, crece con la edad; escasa en el feto, donde apenas llega á la proporción del 1 por 100 del peso total del cuerpo, es más notable en el adulto y en el viejo, donde alcanza la cifra de un 5 á un 7.

Este acrecentamiento de las materias inorgánicas conforme avanza la edad, es un hecho paralelo al predominio en el anciano de las materias muertas ó amorfas sobre las materias vivas ó protoplasmas; prueba patente de que la naturaleza no procede nunca por saltos, sino por suaves transiciones, preparando y como facilitando durante la vida el trabajo de la muerte.

1.—**Cuerpos simples.** a—*Oxígeno* (O). Sumamente esparcido por el organismo, se le encuentra disuelto en casi todos los líquidos orgánicos, pero especialmente en combinación con la hemoglobina de los *hematíes*, constituyendo la *oxihemoglobina*. b.—*Nitrógeno* (N). Hállasele en libertad en las cavidades aéreas y en disolución en la mayor parte de los humores.

2.—**Acidos libres.** a—*Acido carbónico* (CO_2). No viene del exterior, sino que se forma como consecuencia de la combustión de las materias carbonadas que tiene lugar en los protoplasmas vivos.

Hállasele en el plasma de la sangre venosa, en los plasmas interorgánicos, en la linfa, etc., líquidos que lo arrastran al pulmón, por donde preferentemente se elimina. Por lo demás, el ácido carbónico existe en el organismo bajo tres formas: libre, en las cavidades aéreas; en disolución en los humores, y combinado á bases inorgánicas. b—*Acido clorhídrico* (ClH). Forma parte del jugo gástrico. c—*Acido silícico* (Si O2). Reside preferentemente en el cabello y en la mayor parte de los humores; su penetración en el organismo se debe á las bebidas y alimentos que lo contienen, encargándose las glándulas de su eliminación.

3.—**Bases libres.** a.—*Oxido de hierro* (FeO).—Encuéntrase unido á la hemoglobina, materia colorante biliar, y melanina, bajo la forma de óxido férrico. Las demás partes orgánicas encierran sólo vestigios de hierro.—b.—*El óxido de cobre* se halla constantemente en la bilis; en la sangre solamente existen indicios. Ignórase la naturaleza de los compuestos cúpricos que se asocian á estos líquidos, por más que en los productos de la incineración se encuentra el óxido cúprico.

4.—**Sales.** a.—*Fosfatos. El de cal básico* ($Ca_3Ph_2O_8$).—Hállase muy abundante en la sangre, orina, saliva, jugo gástrico, etc., pero sobre todo en los huesos, cuyo material inorgánico constituye en proporción de 51 por 100. Insoluble en el agua, puede disolverse en la sangre y humores, merced al ácido carbónico y á la presencia de la albúmina; penetra en el organismo por los alimentos, especialmente por las semillas de gramíneas, y se expulsa por las vías urinarias. *El fosfato ácido* (CaH,P_2O8). Se le halla muy abundante en los humores, disuelto á beneficio de los ácidos; procede de las mismas substancias que el neutro y básico, y se elimina del propio modo. *El fosfato de magnesia* ($MgHPhO_4+_7HO$). Acompaña al de cal en sus mezclas con las materias orgánicas, formando también parte de los dientes, huesos y humores, eligiendo con preferencia el timo y músculos, órganos donde prepondera sobre el de la cal. *El fosfato-amónico-magnesiano* ($MgNH_4PhO_4+6H\ 2O$). Se presenta siempre que se desprende amoniaco por descomposición de las materias orgánicas, como en las heces y en la orina alcalina. *Fosfato sódico*. De sus tres formas, básico, neutro y ácido, solamente se hallan en el organismo los dos últimos. El neutro (Na2 HPhO4) re-

side en todos los humores, pero especialmente en la sangre; el ácido ($Na\ H_2\ PhO_4$) yace preferentemente en los tejidos.

b.—*Cloruros:—Cloruro de sodio* ($NaCl$).—Reside en todos los sólidos y líquidos del organismo en proporciones de un 0'5 por 100 cuando más. Abunda más en ciertas partes (cartílago) que en otras (hematíes y músculos). El fenómeno bien conocido de que en los animales privados de alimento la orina y demás productos excretorios carecen de sal, junto con la indudable acción nutritiva de esta substancia, nos fuerzan á considerarla como una materia histogenética importante. *Cloruro de potasa* (KCl).—Unido casi siempre al cloruro de sodio, se le halla también, si bien en débiles proporciones, en casi todos los sólidos y humores. La leche, el músculo, la saliva y, con especialidad, los hematíes, donde sobrepuja á la sal, son los parajes que preferentemente le contienen. *Cloruro amónico* (NH_4Cl).—Existente en algunos humores en reducidas proporciones, se origina probablemente en el tubo digestivo, eliminándose por la orina.

c.—*Sulfatos:—El de sosa* (Na_2SO_4).—Se le ve en la orina, en las heces y otros humores, pero es dudosa su existencia en la leche, bilis, etc. Procede quizás por descomposición de las substancias protéicas, cuyo azufre pasaría á ser ácido sulfúrico y se combinaría con la sosa (Frey). *El sulfato de potasa* (K_2SO_4).—Acompaña al anterior en todas las partes en que se le halla.

d.—Carbonatos:—El de cal ($CaCO_3$).—Se asocia al fosfato de cal en los dientes y huesos, igualmente que en todos los humores; forma además las concreciones auditivas *(otolitos)* del hombre y de las envolturas cerebro-espinales de algunos animales inferiores, la rana, por ejemplo. *Carbonato de sosa* (Na_2CO_3 y $NaHCO_3$). Abunda en la sangre venosa, siendo (en parte) el portador del ácido carbónico de las combustiones.

5.—**Agua.** Forma las 70 centésimas del cuerpo del hombre y las 87 por lo menos del cuerpo del embrión; por manera que con la edad aumentan los materiales sólidos á expensas de los líquidos. Las expresadas proporciones varían para cada humor y cada tejido. El agua es el disolvente general de todas las materias que penetran en el organismo, el vehículo de los líquidos nutritivos, y el ménstruo que arrastra las substancias desasimiladas y segregadas

para constituir los productos de secreción y de excreción. Empapa y mantiene en estado coloide las materias albuminoides del organismo, prestándolas una movilidad molecular muy propia para los cambios nutritivos.

Substancias orgánicas del primer grupo.

De ellas puede decirse que no constituyen esencialmente el protoplasma, ni entran como factores principales de las substancias amorfas; son, ó productos destinados, previas transformaciones, á la asimilación, ó materias desasimiladas impropias para la nutrición. Difieren de las inorgánicas en su origen orgánico y en su mayor complejidad, pero se les parecen por su cualidad de cristalizar, al menos en su mayor parte. Su permanencia en los tejidos es sumamente corta, y su fuente es preciso buscarla en el desdoblamiento de las materias albuminoides. Casi todos los cuerpos de la cuarta sección deben considerarse como excrementicios. En suma, dichas substancias establecen el tránsito entre las minerales y albuminoides, tanto por su composición, como por sus propiedades.

1.—**Alcoholes.** *a.—Colesterina* ($C^{26}H^{44}OH^{2}O$). Es probablemente un producto de descomposición. Se le encuentra en la bilis, en la sangre, en la substancia cerebral, en los tubos nerviosos, etc. Cristaliza en láminas romboidales extremadamente delgadas. Es insoluble en el agua, pero soluble en las grasas, el alcohol, éter, cloroformo, bencina, sulfuro de carbono, esencia de trementina, etc. El ácido sulfúrico colorea sus cristales en rojo purpúreo. Funde á 137°. Da lugar, en presencia del ácido nítrico, al ácido colestérico ($C8H^{10}O^{5}$), y con el permanganato de potasa forma dos ácidos monobásicos, á saber: el ácido *colesténico* y *oxicolesténico*.

b.—*Glicerina* ($C^{3}H^{8}O^{3}$). Substancia líquida, incolora, inodora, siruposa, que se mezcla perfectamente con el agua. Su densidad es de 1,264 y hierve á 290°. Cuando pura es neutra y no da precipitados con el oxalato amónico. Es insoluble en éter, cloroformo y esencias, pero se disuelve en todas proporciones en el agua y en el alcohol. La glicerina se encuentra en estado de combinación con los ácidos grasos, formando las grasas neutras de los tejidos y humores.

En el cerebro, en el *vitellus*, en los nervios, habita formando el ácido glicero-fosfórico. Penetra la glicerina en el organismo con las grasas neutras de los alimentos. Después de la saponificación de éstas, se pone en libertad, y se cree que vuelve á combinarse con ácidos grasos para constituir las materias grasientas de los tejidos.

c.—Azúcares:—Substancia glicógena $(C_6H_{10}O_5)^2$. Descubierta por Bernard en el hígado, se la encuentra también en los músculos, ovario, testículo y otros tejidos. Es una materia blanca, amorfa, soluble en agua, insoluble en el alcohol y el éter. Disuelta en compañía de pequeñísima cantidad de cloruro de sodio, es precipitable por el alcohol (Kütz). Precipita también de sus soluciones por el ácido acético, tanino, acetato de plomo, etc. Se distingue de la glucosa en que no reduce el licor cupropotásico, y de la dextrina en que el color obtenido en presencia del yodo, desaparece al calor y reaparece al frío; en la dextrina el calor destruye definitivamente el matiz que el yodo le presta. Se colorea en rojo moreno sucio por el yodo. La acción de la diastasa la transforma en glucosa; la sangre, el jugo pancreático, etc., gozan de igual acción. Bajo la influencia de un fermento residente en las células hepáticas se desdobla en azúcar de uva y en dextrina. *Dextrina* $(C_6H_{10}O_5)$. Así llamada, porque desvía la luz polarizada á la derecha; es una materia soluble en agua, que la diastasa salival transforma fácilmente en glucosa. Se encuentra la dextrina en el intestino, y es la consecuencia de la acción de los fermentos sobre los amiláceos. *Glucosa* $(C_6H_{12}O_6+H_2O)$. Llamada también *azúcar de uva y glicosa,* es una substancia sólida, blanca, inodora, que cristaliza en laminillas romboédricas acumuladas en masas mamelonadas. La glucosa anhidra cristaliza en agujas. Es soluble en agua é insoluble en el éter. Desvía hacia la derecha el plano de polarización. Una de las propiedades más importantes de la glucosa es la facilidad con que fermenta en presencia de ciertos microbios, transformándose ya en alcohol y ácido carbónico *(sacharomices cerevisiae)*, ya en ácido butírico *(bacillus butyricus),* ya en ácido láctico *(bacillus lactici),* etc. La glucosa se reconoce sobre todo por la reacción de Tromner, que consiste en añadir á una solución de esta materia, un poco de potasa y de sulfato de cobre; obtiénese así un color azul que desaparece al calor, por formación de un precipitado rojo pulverulento de oxídulo de cobre. Reside la glucosa en el intes-

tino, quilo, sangre y casi todos los tejidos. Bajo la influencia del oxígeno de la sangre, la glucosa se quema, desprendiendo ácido carbónico y produciendo calor. *Inosita* ($C_6H_{12}O_6+2H_2O$). Es soluble en agua y alcohol, y cristalizable en láminas brillantes; no reduce el sulfato de cobre, pero calentada hasta desecación con ácido nítrico y agregando luego un poco de amoniaco, adquiere un matiz rojo intenso. Se la halla muy abundante en el organismo, especialmente en los pulmones, corazón, riñones, bazo, etc. *Azúcar de leche* ($C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O$). Cristaliza en prismas oblicuos de cuatro facetas y reduce el licor cupropotásico. Es soluble en agua é insoluble en alcohol y éter; desvía á la derecha la luz polarizada. Tratada por los ácidos minerales diluídos, se desdobla en glucosa y en galactosa. Calentada una solución de azúcar de leche con acetato neutro de plomo, adquiere color amarillo moreno. La levadura de cerveza la convierte en alcohol, después de haberla desdoblado en glucosa y galactosa, mientras que el *bacillus lactici* la transforma en ácido láctico. *Goma animal,* descubierta por Landwehr en las glándulas salivales, tejidos mucosos, etc., es una materia blanca, farinácea, soluble en agua, á la que da apariencia siruposa, insoluble en éter y alcohol: no se modifica por la acción de las diastasas; pero si se hierve con los ácidos se transforma en azúcar.

2.—**Acidos orgánicos.** A.—**Acidos grasos.** Los hay líquidos y sólidos á la temperatura ordinaria. Pertenecen á los líquidos, el fórmico, acético, butírico, cúprico, capréico y oléico.

a—*Acido fórmico* (CH_2O_2). Se le halla en el plasma muscular, sudor, timo, etc. b—*Acido acético* ($C_2H_4O_2$). Encuéntrasele en los mismos órganos que el anterior, en el bazo, timo, músculos, sangre de los borrachos. c—*El ácido butírico* ($C_4H_8O_2$). Habita en la leche, sudor, músculos, glándulas sebáceas: constituye en combinación con la glicerina, la *tributirina,* substancia que concurre á formar las grasas neutras del tejido adiposo. d.—*El ácido oléico* ($C_{12}H_{34}O_2$). Es un líquido solidificable á — 4 que se combina á la glicerina para engendrar la *trioleina.* Es el disolvente de las grasas neutras sólidas.

Los ácidos grasos sólidos son: e.—*El palmítico* ($C_{16}H_{32}O_2$). Cristaliza en escamas brillantes, funde á los 62° y constituye con la glicerina la *tripalmitina,* grasa muy abundante en el hombre y mamí-

feros. f.—*El ácido esteárico* ($C_{18}H_{36}O_2$). Abunda menos que el anterior en la grasa humana, funde á 69° y cristaliza en agujas; forma la *triestearina* uniéndose á la glicerina.

B.—**Acidos no nitrogenados.** a—*Acido láctico* ($C_3H_6O_3$). Abunda en el intestino, en el cerebro, glándulas y, con preferencia, en el jugo gástrico. Constituye con la cal el lactato de cal, substancia cristalizable en fascículos de agujas. b—*El ácido paraláctico* ($C_3H_6O_3$). Es muy afine del anterior, del que se diferencia en que sus sales no tienen el mismo equivalente de agua y son menos solubles. Se le halla después de la muerte en los músculos, contribuyendo á darles su reacción ácida. c—*El ácido oxálico* ($C_2O_2(OH)_2$). Se lè halla únicamente, bajo la forma de oxalato neutro de cal, en la orina, sobre todo después de la ingestión de gran cantidad de alimentos vegetales, ó, en ciertos casos patológicos, concurriendo á la formación de los cálculos. d—*El ácido succínico* ($C_4H_6O_4$). Se le encuentra en algunos productos glandulares y en el cuerpo tiroides, timo, etc.

C.—**Acidos nitrogenados.** a—*Acido úrico* ($C_5H_4N_4O_3$). Descomponiendo los uratos de la orina, mediante los ácidos, se obtiene un precipitado rojizo formado por unos cristales de color de café, cuya forma recuerda la de una lente biconvexa vista de perfil. Cristaliza también en láminas romboidales de ángulos redondeados y en otras formas más singulares. En estado de pureza estos cristales son incoloros; pero precipitados en la orina absorben siempre una parte de la materia colorante de ésta, y de ahí el color más ó menos amarillo moreno. Por pequeña que sea la cantidad de este cuerpo sobre que se opere, se puede obtener la reacción de la *murexida;* para ello se mezclan con ácido úrico, en un vidrio de reloj, algunas gotas de ácido nítrico; se calienta hasta sequedad, y se forma una mancha amarilla, que se convertirá en roja tratada con amoniaco, y azul violeta, con la sosa ó la potasa. El ácido úrico es insípido, inodoro, soluble en glicerina y ácido sulfúrico, poco soluble en agua, é insoluble en alcohol y éter. En el organismo se le encuentra generalmente combinado á la sosa, constituyendo masas amorfas de urato sódico, de que principalmente se componen los sedimentos urinarios. Aparece también en la orina combinado al amoniaco *(urato ácido de amoniaco),* constituyendo, ya unas masas esféricas y refringentes, ya aglomerados de agujas finas. Para dosar el ácido úrico de

la orina, se precipita á favor del ácido clorhídrico, se recogen los cristales y se pesan. Reside, además de la orina, en la sangre y casi todos los humores y tejidos. Se le considera como un producto de descomposición de las materias azoadas. b—*Acido hipúrico* ($C_9H_9NO_3$). Semejante al anterior, del cual difiere en la forma de los cristales, que son prismas verticales rectos, romboédricos, en tener una reacción ácida más acentuada que aquél y ser más soluble en el agua. c—*Acido inósico* ($C_{10}H_{14}N_4O_{11}$). Substancia siruposa, incristalizable, que reside en el plasma muscular; es un producto de descomposición de la materia contráctil. d.—*Acido glicocólico* ($C_{26}H_{43}NO_6$) y *taurocólico* ($C_{26}H_{44}NSO_7$). Pertenecen á la bilis en la cual entran en importantes proporciones; se combinan á la sosa formando glicocolatos y taurocolatos de sosa.

3.—**Eteres de la glicerina.** Las grasas neutras resultan de combinaciones de los ácidos grasos con la glicerina. Son substancias incoloras cuando puras, de reacción alcalina, sin olor ni sabor; insolubles en el agua, se disuelven en la bencina, en el éter y en el alcohol hirviendo. En presencia de las bases forman jabones, combinándose el álcali con los ácidos grasos y quedando en libertad la glicerina.

Las grasas de los tejidos se componen de dos grasas neutras sólidas, la *triestearina* y la *tripalmitina,* disueltas en una grasa líquida, la *trioleina.* Se comprenderá fácilmente que, cuanto más abundancia de grasas sólidas haya en la mezcla, el punto de fusión de ésta será más alto. La grasa humana es líquida durante la vida, semilíquida después de la muerte. Dichas grasas neutras contienen en disolución colesterina, lecitina y hasta ácidos grasos.

Langer ha reconocido que las proporciones de los ácidos grasos varían con la edad en el hombre. La grasa del recién nacido funde á 45°, y encierra tres veces más ácido palmítico y esteárico que la del adulto.

El papel fisiológico de las grasas es importantísimo. Acumuladas en grandes cantidades forman coginetes elásticos en torno de los órganos; su propiedad de no secarse mantiene la flexibilidad de la piel, oponiéndose además por su poca conductibilidad del calórico al enfriamiento del organismo. Pero el papel más importante que llenan es el de servir de reservas nutritivas para subvenir á los

gastos orgánicos indispensables á la vida, cuando por excesos funcionales (fiebre) ó desórdenes digestivos, no hay suficientes ingresos alimenticios. Al efecto, las grasas son oxidadas, originándose ácido carbónico, con el consiguiente desprendimiento de calor y producción de energías mecánicas.

A.—**Grasas fosforadas.** Substancias residentes en los nervios y cerebro, que se hinchan como el engrudo en el agua caliente, solubles en el alcohol y éter, y especialmente caracterizadas por el fósforo que contienen. Son: a—*La cerebrina* ($C_{17}H_{33}NO_3$), substancia cristalina, insoluble en agua fría, pero soluble en el éter. b—*La lecitina* ($C_{12}H_{84}NPO_9$), imperfectamente cristalizable, soluble en el alcohol y éter hirviendo, muy poco estable, y residente en la yema del huevo, en el cerebro, el esperma, los hematíes, el pus, etc. c—*La mielina,* que se presenta en masas de forma y magnitud variables, de gran refringencia, se hincha en el agua y se disuelve en el éter hirviendo, tomando, al ácido sulfúrico, un color rojo violáceo. d—*La materia amiloide,* semejante á la anterior y colorable en rojo por el yodo. Según Thudicum, la cerebrina, *frenosina* de este autor, es una materia de constitución muy compleja en la que entran como factores ó moléculas de construcción, *la sfingosina, el ácido neuroesteárico, la cerebrosa* y el agua. Este autor ha señalado además la existencia en la materia venosa de otra porción de substancias, la *psycosina, aestesina,* etc.

4.—**Amidas.** Productos de desasimilación de los albuminoides, muy abundantes en los tejidos y humores, en su mayor parte cristalizables, y de composición cuaternaria. Las principales, son: a—*La urea* (CH_4N_2O). Residente en la sangre, en los tejidos, pero sobre todo en la orina, en cuya composición entra en un 2 ó un 3 por 100. Es una materia neutra, incolora, cristalizable en prismas de cuatro facetas terminadas por caras oblicuas, soluble en agua y alcohol, insoluble en éter, y muy afine de los ácidos nítrico y oxálico, con los que forma las sales nitrato y oxalato de urea. Las soluciones de urea son neutras y precipitan por el nitrato de plata y el sublimado. El nitrato de urea que se forma tratando la orina concentrada por el ácido nítrico, cristaliza en tablas hexagonales poco solubles en agua fría. En presencia de ciertos microbios *(micrococcus ureæ y bacillus ureæ),* la urea se transforma en carbonato de amoniaco,

lo que se atribuye por Musculus á la acción de un fermento soluble segregado por aquéllos. La determinación de la urea de la orina tiene interés bajo el punto de vista patológico. Entre los procederes recomendados, el más cómodo es el de Lecompte modificado por Hefner-Knop, que consiste en tratar la orina con una solución de hipobromito de sodio: la urea se descompone, suministrando ácido carbónico que queda en el líquido, y nitrógeno libre que se desprende, pudiendo recojerse y medirse. b—*Creatina* ($C_4H_9N_3O_2 + H_2O$). Es un cuerpo neutro, soluble en agua, insoluble en alcohol y éter, cristalizable en prismas romboidales y residente en la orina, cerebro, jugo muscular, etc.—*Creatinina* ($C_4H_7N_3O$). Substancia de reacción alcalina, muy semejante á la anterior en sus propiedades, cristalizable en prismas romboideos oblicuos, soluble en agua y habitante en los músculos, orina, etc. d—*Leucina* ($C_6H_{11}(NH_2)O_2$). Cristalizable en esferas, soluble en agua, ácido clorhídrico y álcalis; se la encuentra en los líquidos glandulares y tejidos en putrefacción. e—*Tirosina* ($C_9H_{11}NO_3$). Cristalizable en agujas brillantes, y residente en el páncreas y bazo. f—*Glicocola* ($C_2H_3(NH_2)O_2$). Es un producto de descomposición del ácido hipúrico y del glicocólico. g—*La neurina* ($C_5H_{15}NO_2$). Reside en la bilis. h—*La taurina* ($C_2H_7NSO_3$). Cristalizable en prismas romboédricos solubles en agua, y habitante en la bilis. i—*La cistina* ($C_3H_7NSO_2$). Es más rica en azufre que la anterior, pues alcanza hasta un 26 por 100; es cristalizable en prismas de seis facetas, soluble en los álcalis y ácidos minerales. j—*La hipoxantina* ($C_5H_4N_4O$). Substancia hallada por Scherer en la sangre de los leucémicos, en la del buey, caballo, músculos, corazón, hígado, etc.; es notable por la forma cristalina (en láminas romboidales) de su combinación con el ácido nítrico. l— *La xantina.* Es semejante á la anterior ($C_5H_4N_4O_2$), de la que difiere por contener un átomo más de oxígeno. m—*La paraxantina,* descubierta recientemente por Salomon en la orina, es precipitable por el ácido pícrico, menos soluble en el agua fría que la xantina, pero más en caliente, etc., etc.

2.° GRUPO.—SUBSTANCIAS PROTÉICAS.

1.—**Caracteres generales.** Son las materias histogenéticas por excelencia. Aunque en todas las partes orgánicas habitan, su asiento preferente es el bioplasma ó protoplasma, que forman casi en totalidad. Entran también por una cantidad considerable en la composición de los líquidos nutritivos. Constituyen la materia fundamental de la vida; fuera de ella no hay otra cosa que substancias inertes, sin más propiedades que las físico-químicas. Quizás la clave de las elevadas actividades de que son teatro los albuminoides reside en esa movilidad molecular extraordinaria, en esa instabilidad de sus combinaciones que tan bien se aviene con la constante renovación nutritiva de los tejidos, y por cuya virtud se ha dicho que no son iguales á sí mismas en dos momentos sucesivos de tiempo.

La composición de estos cuerpos es sumamente compleja, pues constan de oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, carbono y azufre. Todavía no se conocen bien ni la naturaleza ni el número de las especies protéicas del organismo; nace esta ignorancia de lo efímero de las combinaciones de estos cuerpos, de sus transformaciones rápidas, de sus variados estados isoméricos y de la dificultad de aislarlos entre sí.

Las *materias albuminoides,* que son los cuerpos más interesantes de este grupo, se presentan en tres estados: *natural* ó *líquido, coagulado,* y *en combinación* ya con los ácidos, ya con los álcalis (albúmina ácida, albuminatos alcalinos).

El calor coagula casi todos estos cuerpos, y como actúa en grados diversos para cada uno, es posible la separación de los mismos. El ácido acético, el sulfato de sosa, etc., favorecen la acción coagulante del calor.

Las soluciones diluídas de cloruro de sodio disuelven ciertos albuminoides, como la globulina, y, á gran concentración, llegan á disolver hasta la fibrina.

Los álcalis forman albuminatos alcalinos que son solubles en los líquidos básicos. Los ácidos diluídos originan la albúmina ácida (por ejemplo, el ácido clorhídrico). Los ácidos minerales fuertes en

presencia del calor, suscitan desdoblamientos; constituyen desde luego peptona, y ulteriormente ácidos y amidas (leucina, tirosina, glicocola, proteina, etc.)

Ciertos albuminoides resisten á la digestión pépsica (nucleina, keratina, plastina, neurokeratina, etc.); pero otros, como la fibrina, la albúmina, vitelina, colágena, elastina, albuminatos alcalinos, albúmina ácida, etc., se digieren perfectamente. La digestión trípsica obra casi lo mismo.

Los albuminoides se colorean de amarillo por el ácido nítrico, con formación de *ácido xantoproteico,* de rojo por el reactivo de Millon, de moreno amarillento por el yodo, de violeta purpúreo por el ácido sulfúrico y azúcar. Las sales de mercurio, de plata, platino, oro, cobre, hierro, etc., forman con los albuminoides combinaciones insolubles.

Se asimilan y se desasimilan con rapidez en la intimidad del organismo, dando lugar á una multitud de productos de descomposición, las amidas, los ácidos nitrogenados y las colágenas, substancias impropias para la vida y destinadas á eliminarse después de un tiempo más ó menos largo de permanencia en los tejidos.

Divídense los albuminoides en cuatro variedades principales: los albuminoides propiamente dichos, las materias colágenas, las substancias colorantes y los fermentos.

1.—**Albuminoides.** a.—*Albúmina* ($C_{53}H_7N_{15}O_{22}S_1$).—Es la materia protéica más abundante en el organismo. Se la encuentra en la sangre, en la clara de huevo y en todos los tejidos. Se presenta bajo dos formas, líquida y sólida. La 1.ª es precipitable por el tanino, alcohol, calor y sales metálicas, pero no por los álcalis. Se asocia casi siempre á la sosa, con la cual constituye albuminato sódico. Si bien la albúmina ofrece siempre las expresadas propiedades, existen algunas variedades como la *albúmina sanguínea,* la *muscular* y *la del huevo.* La muscular coagula á 47°, mientras que la de la sangre ó *serumalbúmina* lo hace á 72°. La albúmina coagulada es insoluble en agua, en las sales y en el ácido clorhídrico diluído. Este último ácido, cuando está suficientemente concentrado, la transforma en albúmina ácida. Los álcalis fuertes producen albuminatos alcalinos. Estos compuestos, así como la albúmina ácida, son insolubles en agua.

b.—*Fibrina* ($C_{52}H_7N_{17}O_{21}S_1$).—Substancia del coágulo de la sangre y de muchos líquidos patológicos, de color blanco-grisáceo, de aspecto fibrilar, soluble en los álcalis, insoluble en el agua, éter, etcétera. El ácido clorhídrico la esponja sin disolverla. Aunque se sabe que este cuerpo reside en la sangre, linfa y quilo, no está resuelta aún la cuestión de su naturaleza: los más de los fisiólogos están de acuerdo en afirmar que el referido cuerpo no preexiste en la sangre, sino que se forma en el acto mismo de la coagulación, lo cual equivale á negar la individualidad química de la fibrina y considerarla como un producto de descomposición. Tres son las opiniones que se disputan hoy la resolución del problema: la de Denis, la de Schmidt y la de Hammarsten.

Supone Denis, que en la sangre se encuentra, además de la albúmina (serina), otro principio albuminoide, que llama *plasmina,* en proporción de un 25 por 1.000, el cual durante la coagulación se desdobla en otros dos: uno que permanece disuelto en el plasma, *la fibrina disuelta;* y otro que constituye el coágulo de fibrina, *la fibrina concreta.* La opinión de Schmidt es contraria á la de Denis. Afirma Schmidt, que en la sangre, y al lado de la serina y de la peptona, residen dos cuerpos albuminoides más: la substancia *fibrinoplástica* ó *serum-globulina* en proporción de un 20 por 1.000, y la *fibrinógena* en cantidad de un 3 por 1.000. En el acto de la extravasación de la sangre, y á favor de un fermento que sueltan los leucocitos al descomponerse, las dos expresadas substancias, *fibrinógena* y *fibrinoplástica,* se combinan, dando lugar á la fibrina coagulada. En el coágulo no entra toda la *fibrinoplástica,* sino una parte pequeña de ésta unida á toda la *fibrinógena.* Según Hammarsten, la fibrina no resulta de la combinación de la fibrinógena y fibrinoplástica, sino que deriva exclusivamente de la fibrinógena, y no de toda, pues que el coágulo fibrinoso es siempre menor que la cantidad de dicho principio. En sentir de este sabio, la fibrinógena se desdobla en *fibrina sólida* y una *globulina* que queda disuelta en el suero *(fibrino-globulina).* Este desdoblamiento se debería á un fermento (probablemente el aislado por Schmidt), preexistente en la sangre y denunciable hasta en el suero después de la coagulación, como lo indica la producción en éste de un coágulo fibrinoso cuando se le mezcla con materia fibrinógena. La serumglobulina ó fibrino-

plástica, podría ser englobada mecánicamente por el coágulo, pero sin participar en el proceso.

Serumglobulina (fibrino-plástica, paraglobulina). Precipita por una solución saturada de sulfato de magnesia (Hammarsten).

El cloruro de sodio la precipita incompletamente. Es insoluble en agua pura, pero soluble en la aereada y cargada de ácido carbónico, en los álcalis diluídos, carbonatos alcalinos, el cloruro de sodio diluído, etc. Sus soluciones coagulan á mayor temperatura que la albúmina (á 75° su solución en sal común).

Fibrinógena. Coagula de 52 á 56°. Precipita completamente por las soluciones concentradas de cloruro de sodio, lo que no ocurre con la fibrino-plástica. La fibrinógena habita en el plasma sanguíneo y linfático, serosidad del pericardio, pleura, líquido del hidrocele, exudados inflamatorios, etc. Entra, como acabamos de exponer, en la formación de casi todo el coágulo fibrinoso.

Vitelina. Substancia albuminoide próxima á la globulina, que se halla en el óvulo y en muchos tejidos. En la yema del huevo de los quelonios y peces, en vez de amorfa, aparece cristalizada. Una temperatura de 75° la coagula. Los ácidos y álcalis la transforman respectivamente en albúmina ácida y albuminantes alcalinos.

c.—*Miosina.* Materia albuminoide, que forma parte del plasma muscular, y cuya coagulación espontánea después de la muerte origina el fenómeno de la rigidez cadavérica. La miosina coagulada es insoluble en agua, soluble en los álcalis y en los ácidos débiles.

d.—*Globulina* ($C_{34}H_6N_{16}O_{20}S_1$). Albuminoide residente en el cristalino y en los hematíes, no coagulable espontáneamente, pero sí bajo la influencia del calor y á una temperatura más elevada que la albúmina.

e.—*Caseina* ($C_{54}G_7N_{15}O_{22}S_1$). Materia protéica de la leche, cuyas propiedades son: coagularse bajo la influencia del jugo gástrico, del calor en las porciones del líquido en contacto con el aire, y por el ácido acético.

La individualidad de la caseina es hoy asunto de controversia. Danilewsky afirma que la caseina es una mezcla de albúmina del suero y de albuminatos alcalinos. Frey piensa que puede ser muy bien un albuminato. Hammarstein (1883) defiende la opinión de que la caseina es un albuminoide, bien caracterizado por la propiedad

de coagular por el *cuajo,* el cual debe colocarse entre la albúmina y la nucleína bajo el nombre de *núcleo-albúmina.*

g—*Peptonas*. Sabido es que las materias albuminoides pertenecen al grupo de las coloides de Graham, y, por tanto, son insusceptibles de atravesar las membranas animales. Mas por la acción de los fermentos digestivos adquieren cierta modificación isomérica, por cuya virtud las materias insolubles se hacen solubles en agua, perfectamente dialisables é imprecipitables por el calor y ácidos minerales diluídos. Estas últimas son las *peptonas* ó *albuminosas.*

Aunque se han considerado muchas peptonas, Poehl afirma que solo existe una individualidad química que merezca este nombre, y que es el término común de las transformaciones de los albuminoides. Esta substancia se precipita por el alcohol en copos blancos, mas no la precipitan ni el calor ni el ferrocianuro de potasio acidulado. Encuéntrase según aquel autor, en muchas localidades del organismo, en los kistes ováricos, en los esputos, en la orina ácida, etc. Esta transformación de los albuminoides puede producirse también según Poehl por la acción de la trama cerebral, renal, etc., sobre las materias protéicas, con presencia del ácido hidroclórico. De todos modos, es cuestionable aún la naturaleza y el número de las peptonas que resultan de la acción de los fermentos. Kühne describe recientemente bajo el nombre de *hemialbuminosa* un producto complejo resultado de la acción de los fermentos sobre materiales protéicos. Según él, la hemialbuminosa se compone de la *protoalbumosa,* precipitable por el cloruro sódico y soluble en agua fria y caliente, la *deutoroalbumosa* no precipitable por la sal y soluble en agua y la *dysalbumosa* insoluble en los líquidos salinos, etcétera. La hemialbuminosa de Kühne es igual á la *propeptona* de Schmidt y Mülheim.

h—*Plastina de Reinke*. Substancia albuminoide que forma principalmente la membrana y *reticulum* del protoplasma. Es insoluble en agua, alcohol y éter, cloruro de sodio al 10 por 100 y en el ácido clorhídrico diluído á 3 por 100. Es también difícilmente atacable por las bases, por los ácidos fuertes, por la pepsina y líquido digestivo artificial. Sin embargo, bajo la acción del ácido clorhídrico concentrado y del jugo gástrico en acción prolongada llega á disolverse.

1.—*Nucleina de Miescher.* Descubierta en 1871 en los glóbulos del pus y en los zoospermos de diversos animales; hoy se sabe que no sólo reside en los núcleos, sino que forma casi exclusivamente el filamento cromático (Carnoy).

Miescher reconocía dos nucleinas: la una insoluble, y soluble la otra. Hoy se acepta sólo esta última como nucleina verdadera, pues la otra es indudablemente la elastina ó la plastina. La nucleina se hincha en el agua sin disolverse, es insoluble en el alcohol, éter y ácidos diluídos; el cloruro de sodio al 10 por 100 la transforma en una masa difluente, y los álcalis diluídos, el carbonato potásico y cianuro de idem, la disuelven con facilidad. Los ácidos fuertes, ácido clorhídrico, etc., la disuelven también. Es indigestible en el jugo gástrico. Según Zacarías, la nucleina *in situ* se disuelve por el cloruro de sodio y se digiere en parte. Según Kössel, la nucleina es una combinación de la albúmina con el *ácido nucléinico.* Este último contiene fósforo, y su fórmula, según Miescher, es: $C_{29},H_{49}N_9Ph_3O_{22}$. Bajo la influencia de ácidos ó álcalis diluídos, la nucleina se desdobla en albúmina, bases no nitrogenadas y ácido fosfórico. Las bases son la *guanina, xantina é hipoxantina.*

2—**Substancias colágenas.** Así llamadas por poseer la propiedad común de dar jalea por la cocción, son substancias nitrogenadas, ricas en azufre, insolubles en agua fría, pero solubles en la caliente, bajo prolongada ebullición. El ácido nítrico las tiñe de amarillo; pero la mezcla de azúcar y de ácido sulfúrico no las llega á enrojecer. Derivan las colágenas de las materias albuminoides de las células y constituyen la mayor parte de las substancias amorfas, por ejemplo, la fundamental del cartílago, hueso, tejido conjuntivo, elástico, adiposo, etc. Son, pues, factores histogenéticos de primer orden, y su importancia en el organismo deriva de sus especiales propiedades físicas y químicas, pues jamás toman participación en la constitución de las células, y por tanto, no pueden gozar de propiedades vitales.

a.—*Colágena.* Se encuentra en el tejido óseo y conjuntivo, constituyendo el factor principal de la materia orgánica de aquél y de los fascículos de éste. Sometida á una ebullición prolongada, da origen á la *gelatina,* materia cuyos caracteres son precipitar por el sulfato de hierro, ácido metafosfórico, tanino y el cloruro de mercurio,

y no por los álcalis, ni por los ácidos, desviar la luz polarizada á la izquierda y formar jalea con el agua en proporción de 1 por 100. La colágena se digiere por el jugo gástrico.

b.—*Condrina*. Se halla en la substancia fundamental de los cartilagos, tanto permanentes como transitorios, en el tejido de la córnea, etc. Distínguese de la gelatina en que la precipitan los ácidos minerales y ácido acético, el nitrato de plata, el alumbre, el sulfato de hierro, agentes que no precipitan la gelatina. Un exceso de ácidos minerales, escepto el ácido acético, redisuelve la condrina precipitada. El jugo gástrico la disuelve también.

Las investigaciones modernas ponen en tela de juicio la individualidad de la condrina (Mörner, Boedecke, Kössel). Esta substancia parece ser una combinación del *ácido condrotico* con la albúmina y álcalis.

Por descomposición origina el ácido condrotico la *condroitina,* substancia semejante á la goma arábiga, la cual, tratada por los ácidos, engendra á su vez el ácido acético y la *condroisina*.

c.—*Elastina*. Substancia constituyente del tejido elástico, de los fondos de saco glandulares, etc. Su caracteristica consiste en la indiferencia química, pues no la atacan los ácidos y los álcalis. La potasa al 40 por 100 y el ácido acético cristalizable no la alteran, ni aun después de varias horas de ebullición. No obstante, el ácido clorhidrico la disuelve á no muy altas temperaturas.

La elastina se ha considerado como una materia refractaria á los jugos digestivos, pero si hemos de dar fe á las experiencias de Horbaczewski (1882), digiérese perfectamente por la pepsina y el ácido hidroclórico, desdoblándose en dos materias: una precipitable por el ácido acético, el ferrocianuro de potasio, etc., llamada *hemielastina* por el expresado autor; y otra imprecipitable de su solución por los citados reactivos, que sería *la peptona* de la elastina.

En el organismo juega la elastina un papel importante, sirviendo por su elasticidad, de resorte, y por su indiferencia química, de filtro para las glándulas y membranas.

d.—*Keratina*. Es la substancia córnea que forma las uñas, los pelos y la capa epidérmica más exterior de la piel. Es insoluble en el agua fría y caliente, no da cola por la ebullición, se hincha en

los álcalis, que concluyen por disolverla, resiste al ácido acético y sulfúrico, quienes á la larga la hacen aumentar de volumen.

e.—*Neuro-keratina.* Materia hallada en el sistema nervioso por Kühne y Ewald, por el método de las digestiones histológicas. Es insoluble en frío, en la potasa y ácido sulfúrico, é inatacable por la tripsina y pepsina, carácter este último muy importante, pues apenas hay tejidos que no sean digeridos por aquellas substancias. Según Waldstein y Weber la neuro-keratina es simplemente un producto de desdoblamiento de la mielina.

f.—*Mucina.* Así llamada por encontrarse en las mucosidades; se la halla igualmente en los exudados y detritus de las mucosas, en la sinovia, en las células caliciformes del intestino, en ciertas neoplasias y en la gelatina de Warton. La mucina se precipita en copos por el ácido acético, en fibras por el alcohol y no es coagulable por el calor.

g.—*Substancia coloide.* Materia homogénea, transparente, insoluble en agua y ácido acético, soluble en los álcalis. Se distingue de la mucina en que no es precipitable por el ácido acético. Su residencia es el cuerpo tiroides y ciertos tumores patológicos llamados coloideos.

h.—*Pseudo-mucina.* La llamada *meta-albumina* por la generalidad de los químicos, es considerada por Hammarsten como un principio muy afine de la mucina; precipita por el alcohol, dejándose estirar en hilos el precipitado: no se coagula por el calor, y el tanino la transforma en una materia de aspecto coloide. La *para-albumina* de los autores es según el citado químico una *metalbumina* impura.

3.—**Materias colorantes.** a.—*Hemoglobina.* Substancia colorante del hematíe, de color amarillo anaranjado, soluble en agua, insoluble en éter y alcohol, coagulable por el calor, cristalizable en prismas exagonales en el hombre y mamíferos superiores, en tetraedros en el conejillo de Indias y ratón, en láminas hexagonales en la ardilla. Posee la hemoglobina notable afinidad por el oxígeno, con el que forma la *oxihemoglobina* de la sangre arterial *(arterina),* pero la tiene todavía mayor por el óxido de carbono, resultando la *hemoglobina oxicarbonada,* substancia igualmente cristalizable. Un gramo de hemoglobina absorbe 1,3 de oxígeno. La solubilidad de

la hemoglobina en agua, es distinta en las diversas especies de vertebrados, de lo cual resulta, que no en todas se obtienen con la misma facilidad los cristales de la sangre; así en las aves, el conejo común, los batracios, etc., goza la referida materia de tanta solubilidad que, aun concentrando el licor hasta consistencia de jarabe, no se precipitan los cristales; en cambio, en el gato, rata, caballo, y especialmente en el conejillo de Indias, la hemoglobina es tan poco soluble, que bastan unas gotas de éter añadidas á sangre desfibrinada, para que inmediatamente se depositen los cristales. No es raro ver en el conejillo de Indias, examinando preparaciones de sus tejidos, los capilares llenos de hermosos tetraedros. Según Renaut, el agua de cristalización de la hemoglolina variaría en las distintas especies.

Las soluciones diluídas de oxihemoglobina producen en el espectro dos bandas de absorción entre las rayas D y E. La hemoglobulina reducida de la sangre venosa ofrece una sola banda entre las rayas D y E, llamada *línea de reducción de Stokes.* La oxicarbonada muestra lo mismo que la oxihemoglobina, dos bandas de absorción también entre la línea D y E, pero más ladeadas, sobre todo la izquierda, hacia la derecha.

En todo caso, distinguiremos al espectróscopo la oxihemoglobina de la hemoglobina oxicarbonada, en que ésta no dará, tratada por los agentes reductores, el sulfhidrato amónico por ejemplo, la única banda de absorción de Stokes.

El papel fisiológico desempeñado por la hemoglobina, es atraer el oxígeno del aire en el pulmón, condensarle en cierto modo, como la esponja de platino los gases, y ponerlo á disposición de los elementos anatómicos, que son los que realmente respiran.

b.—*Hematoidina* ($C_{17}H_{18}N_2O_3$). Es un derivado de la hematina engendrada de un modo espontáneo en los derrames sanguíneos intersticiales de los órganos; hállase también en los cuerpos lúteos del ovario. Cristaliza en tablas romboidales, de color rojo naranja, solubles en el cloroformo, sulfuro de carbono, éter, pero insolubles en el agua, alcohol, sosa, etc. La hematoidina difiere de la hematina en que no contiene hierro. Para obtener los cristales de hematoidina aconseja Stædeler tratar por el cloroformo el ovario de las vacas; la hematoidina disuelta cristalizará por eva-

poración. Muchos autores identifican la hematoidina con la *bilirubina.*

c.—*Hemina* ($C_{34}H_{34}N_4FeO_5HCL$). Llamada también *clorhidrato de hematina;* es una substancia muy fija, de color moreno-café, insoluble en el agua, éter y alcohol, soluble en los álcalis, en el ácido sulfúrico y en el nítrico hirviente, cristalizable en columnas romboédricas ó en agujas dispuestas en estrellas. Procede de la descomposición de la hemoglobina. Para obtenerla, se diluye una gota de sangre seca por el ácido acético, en presencia de una pequeña cantidad de sal, y se somete el todo á la evaporación bajo un suave calor. Al microscopio aparecerán en la costra sanguínea multitud de pequeños cristales de hemina, por cuya forma y color serán característicos. Este proceder sirve para determinar en los casos médico-legales, si una mancha que parece de sangre, lo es efectivamente.

d.—*Hematina* ($C_{34}H_{34}N_4FeO_5$). Es otro producto de descomposición de la materia colorante de la sangre. Es de color moreno, incristalizable, insoluble en agua, éter y alcohol, pero soluble en alcohol mezclado al ácido sulfúrico y en los álcalis diluídos.

e.—*Methemoglobulina.* Cuando la hemoglobina se descompone bajo la influencia del aire, después de transformarse en oxihemoglobulina pasa á ser *methemoglobulina,* substancia considerada por Jäderholm como una hemoglobina peroxigenada. Sus soluciones alcalinas vistas al espectróscopo, muestran cuatro bandas de absorción en vez de las dos de la oxihemoglobina. Al contrario de aquel autor, Heninger la estima como un producto menos avanzado de oxidación, es decir, como una transición entre la hemoglobina y la oxihemoglobina. Ultimamente, Huefner y Otto la han obtenido cristalizada, tratando la hemoglobina por el ferrocianuro de potasio; sus cristales de forma columnar, son menos solubles en agua que los de la oxihemoglobina.

f.—*Bilirubina.* Esta substancia que forma la materia colorante de la bilis es roja y cristaliza en tablas romboidales. Es insoluble en agua, poco en alcohol y éter, más en cloroformo y en fosfato de sosa. Los líquidos alcalinos disuelven fácilmente esta substancia. En la bilis, la bilirubina hállase disuelta en álcalis y transformada en una substancia verde que ha tomado el nombre de *biliverdina.*

Las soluciones alcalinas de bilirubina expuestas al aire, engendran también dicha materia verde. La *biliverdina* es soluble en alcohol, poco en agua, y se presenta amorfa ó imperfectamente cristalizada. La bilirubina deriva probablemente de la hemoglobina, por destrucción de los glóbulos en el hígado. Lo que caracteriza á la materia colorante biliar es su reacción con el ácido nítrico mezclado al ácido sulfúrico: aparecen sucesivamente el color verde, azul, violeta, rojo, etc.

g.—*Materia colorante de la orina.* Poco soluble en agua, más en la orina fresca y caliente, á la que presta coloración amarillenta, soluble en alcohol y éter. Procede según Harley, de la materia colorante de la sangre. En estos últimos tiempos se han descubierto otras materias colorantes de la orina: el *indican, indol,* el *indigo azul* y otras menos importantes.

h.—*Melanina.* Pigmento negro del cabello, de la coroides, iris y capa profunda de Malpigio de la piel. Se presenta bajo la forma de granulaciones, á veces de apariencia cristalina, notables por su fijeza y por su insolubilidad en el ácido acético, agua, éter, alcohol y ácidos minerales. El ácido nítrico concentrado y la potasa la disuelven. Contiene hierro. Se supone que la melanina dimana de la hemoglobina de la sangre; así al menos lo abona la frecuencia de las pigmentaciones en la proximidad de los focos hemorrágicos intersticiales.

4.—**Fermentos.** Substancias albuminoides (derivadas probablemente por descomposición de las materias proteicas celulares), que mezcladas á las substancias feculentas y albuminoides coaguladas, las transforman de insolubles en solubles, y de indialisables en dialisables. Las principales son: a—*la ptialina* ó *diastasa salival,* materia soluble en agua, insoluble en alcohol, que transforma el almidón en destrina y glucosa. b—*La pepsina,* fermento del jugo gástrico, imprecipitable por los ácidos y el calor, pero sí por el alcohol, y cuya misión es transformar los albuminoides coagulados, en peptonas. c—*La pancreatina,* substancia viscosa del jugo pancreático, que se enrojece por el agua clorurada, coagula por el calor y el alcohol, y transforma los albuminoides y feculentos en peptonas y glucosa respectivamente, etc.

Aunque los materiales feculentos se disuelven por la acción de

la diastasa salival principalmente, no puede negarse la posibilidad de que los microorganismos de la boca y los del intestino, contribuyan en parte á la sacarificación del almidón, pues Workmann (1883), ha demostrado que las bacterias segregan una diastasa que disuelve el engrudo de almidón, convirtiéndole en azúcar; y Bechamp reconoce que la función de la sacarificación llamada salival, es obra en gran parte, de los micrófitos bucales.

SECCIÓN SEGUNDA.

ELEMENTOLOGÍA.

CAPÍTULO I.

CONCEPTO DE ELEMENTO ANATÓMICO Y DE CÉLULA.—VARIEDADES DE CÉLULAS.—TEORÍA CELULAR.—OPINIONES HIPOTÉTICAS ACERCA DE LA CONSTRUCCIÓN CELULAR.—CONCEPTO ORGÁNICO DE CÉLULA.

Elementologia es la sección de la Anatomía general que trata de los elementos ó partes elementales del organismo.

Llámanse elementos anatómicos á las últimas formas dotadas de vida individual en que los tejidos se descomponen por disociación mecánica ó anatómica.

Como se vé, el concepto de elemento abraza dos extremos: forma última microscópica, y vida individual.

Casi todos los histólogos adoptan este criterio en la definición de las partes elementales del organismo, resultando así que no existen más elementos que las células, porque éstas son las únicas formas donde concurren los dos citados atributos. Mas no faltan histólogos (Robin) que, fijándose preferentemente en la nota primera y despreciando la segunda, estiman como elementos orgánicos todas las partes constituyentes de los tejidos con forma, estructura y propiedades físico-químicas propias (1) á saber: las fibras, tubos, células, materias amorfas con cavidades, etc.

Pero con la omisión del concepto fisiológico, pierde gran parte de su unidad y generalidad la doctrina elementológica, y se cae en el defecto de confundir, bajo una misma denominación, partes tan desemejantes en estructura y propiedades como las células, agentes

---

(1) Programme du cours d'histologie. Paris, 1870.

formadores de todos los tejidos, origen de todos los seres, teatro de todas las actividades vitales; y la materia amorfa, propia no más de ciertos organismos y de ciertos tejidos, segregada por el protoplasma y sin más propiedades que las físico-químicas.

Aparte de que el criterio morfológico es tan ámplio, que, de seguirlo fielmente en la determinación de las partes elementales, nos obligaría á colocar entre éstas, las membranas, el núcleo, el nucleolo, el armazón del núcleo, etc., en una palabra, cuantas partes formes con estructura y propiedades físico-químicas peculiares nos revela el análisis anatómico en las masas orgánicas.

Los autores que entienden que no hay más elemento anatómico que la célula, no niegan la existencia de fibras, tubos, granulaciones, etc., en la trama de los tejidos, sino que consideran estas formas como disposiciones accidentales acaecidas en el curso del desarrollo y debidas á la actividad formativa de las células.

La exclusión de las materias celulares de la dignidad de elementos anatómicos, nos parece plenamente justificada. Porque si la célula es la causa y la materia fibrilar el efecto, si vive la una y no vive la otra, hállase la primera en todos los seres, cualquiera que sea su categoría vital y fase evolutiva, y encuéntrase la segunda solamente en determinados tejidos adultos pertenecientes á seres muy elevados en la escala de la vida, claro es que esta materia, forme ó amorfa, debe estimarse, no como elemento orgánico, sino algo como la envoltura, la concha que la célula se labra para en ella cobijarse; y, pues es el resultado del trabajo celular, como accesorio de la célula debe estudiarse, con igual derecho que la membrana celular, á menos que no se considere más propio incluirla en la fisiología del protoplasma, á título de materia segregada.

1.—**Definición de célula** (1). Es una masa viviente, de forma

(1) Después de los descubrimientos realizados en el protoplasma, las antiguas definiciones de célula han tenido que modificarse. Hé aquí cómo la define Arnold: «es un cuerpo que contiene un núcleo y masa de revestimiento, los cuales se componen de una materia homogénea que encierra en su interior gránulos y filamentos.» Véase Archiv. fur mikr. Anat. Bd. XIII. (p. 857.)

Flemming dá una definición parecida. Zellsustanz, Kern, und Zellbildung, (p. 72.) (1882.)

Carnoy, entiende por célula «una masa estructurada y viva de protoplasma rodeada de una membrana y alojando un núcleo.» Biologie cellulaire. Louvain. (1884.)

Células son, según Schiefferdecker, los organismos elementales que integran el cuerpo de los animales (Gewebelehre mit besonderer Berücksichtigung des menschlichen Körpers. 1891.) Como se vé, esta definición es de base fisiológica y no atiende al concepto anatómico que debe entrar, forzosamente, en toda noción de célula.

variable, de estatura por lo general microscópica, que consta, en ciertos casos, de un solo pedazo de protoplasma estructurado, pero más comunmente, de protoplasma, núcleo y membrana también estructurados.

Quedan comprendidas en esta definición todas las especies celulares, así las imperfectas como las perfectas, y en ella no se prejuzga nada relativamente á la composición morfológica del elemento orgánico, problema que dista mucho de estar completamente resuelto. Mas los conocimientos actuales nos autorizan ya á considerar el protoplasma y el núcleo como partes con propia y especial estructura anatómica, circunstancia que nos ha parecido conveniente anticipar en la definición para dar á entender que la célula, lejos de ser un simple conglomerado de principios inmediatos, es una complicada máquina donde entran infinidad de partes morfológicas diferenciadas.

Síguese de lo expuesto, que no todos los elementos orgánicos ofrecen igual complicación, ni todas sus partes componentes gozan de igual dignidad é importancia. Bajo el punto de vista estructural, divídense los elementos en dos clases: 1.º *protoblastos,* elementos sin cubierta, pero con núcleo; 2.º *células perfectas,* es decir, elementos que constan de cubierta, núcleo, nucleolo y protoplasma. Los protoblastos, ó elementos sin cubierta, constituyen la mayor parte de las células animales, leucocitos, células nerviosas, conjuntivas, etc. Las células perfectas pueblan también importantes tejidos de los animales (epitelios, células grasientas, musculares, etc.), y casi la totalidad de los vegetales (1).

2.—**Teoría celular.** Iniciada por Turpin, desarrollada por Mirbel y Dutrochet y generalizada á todos los seres por Schwan, comprende en la actualidad las tres afirmaciones cardinales siguientes:

(1) Hace algunos años se admitía la existencia de otra categoría de elementos más sencillos aún que los *protoblastos,* pues carecerían de núcleo y de membrana (*citodos* de Haekel); pero los modernos estudios han revelado la presencia de numerosos núcleos en los microorganismos calificados de *anucleares* ó *citodos.*

En realidad, solo los microbios parecen carecer de núcleo; al menos no pueden demostrarlo los más poderosos aumentos. Y sin embargo, si se tienen en cuenta las recientes indagaciones de Bütschli, Ernst, Wahrlich y Nils Sjobring (1892) que atestiguan la existencia de cromatina nuclear y hasta de figuras kinéticas en ciertos bacilos gruesos, cabe suponer que no está lejano el tiempo en que aquel órgano se haya descubierto en todos los elementos vegetales y animales.

1.ª—*Unidad anatómica.* Todos los seres vivos, así animales como vegetales, son ó simples células, ó acúmulos de células, ya simples, ya transformadas. Organismos hay que están formados de sola una célula (gregarinas, amebos, bacterias, etc.), y el óvulo, punto de partida de los seres más superiores, representa una simple célula también. Bajo las apariencias más diversas, en el tallo y en la flor, en el nervio y en el músculo, por todas partes hállanse las células, vivas y turgentes unas, como el vivaz leucocito y la célula pestañosa, agostadas y muertas otras, como el hematíe sanguíneo y la célula córnea epidérmica. Ni se esceptúa el órgano más noble y activo, como el cerebro, ni el más inerte y pasivo, como el cartílago, de esta ley general de construcción de los organismos, con razón considerada como la más preciada conquista de las ciencias biológicas. No sin algún esfuerzo se ha logrado generalizar esta verdad á todas las partes integrantes de los tejidos. La reducción al tipo celular es fácil empresa con las células epiteliales, cartilaginosas, conjuntivas, leucocitos, elementos poco diferenciados y distantes de su conformación originaria; mas se han necesitado los trabajos de Köliker para subordinar á ella las fibras lisas contractiles, los esfuerzos de Schültze para reducir los núcleos musculares, y las ingeniosas experiencias de Ranvier para hacer entrar en el plan general el tubo nervioso, parte que había escapado hasta hace poco tiempo á toda tentativa de reducción.

2.ª—*Unidad fisiológica.* La célula es un organismo en miniatura, un pequeño individuo con vida autónoma, asociado á otros sus semejantes para formar el cuerpo de los organismos. Se nutre, digiere, asimila, segrega, se mueve y reproduce, revelando las tres categorías de manifestaciones vitales de los seres individuales vivos, es decir, las funciones de nutrición, relación y reproducción. La célula es la única depositaria de la vida dentro del organismo; la actividad del órgano, la función del aparato, son la resultante del trabajo de cada una de sus células componentes. Todo lo no reductible al tipo celular, la materia fundamental del hueso, diente y cartílago, la fibra elástica y conjuntiva, carece de propiedades vitales y sus oficios son puramente mecánicos y pasivos: la fibra elástica es el muelle que hace volver á su sitio las partes dislocadas por la actividad celular; la cal de los huesos sirve de palanca, protección y sus-

tentáculo; la fibra del tendón de correa trasmisora de la energía del músculo; el *plasma sanguinis* de vehículo de las materias nutritivas; todos servicios pasivos, mecánicos, iguales á los que el hombre obtiene ó puede obtener de los artefactos que construye.

Esta oposición entre las partes vivas y muertas que entran como factores de los organismos, ha sido correctamente formulada por Beale (1). Divide este autor las partes orgánicas en tres categorías: 1.ª materia que vive *(bioplasma, protoplasma,* etc.); 2.ª materia que ha vivido *(substancias amorfas);* 3.ª materia que vivirá *pábulo de la vida,* sangre, etc.) Es decir, vida en presente, pasado y futuro.

3.ª—*Unidad genética.* Las células no surgen en las masas orgánicas por un acto de creación, algo como una cristalización de materias albuminoides, sino que á la manera de los seres vivientes, nacen de otras células preexistentes, y, por una serie no interrumpida de generaciones, del óvulo mismo. El parecido morfológico y fisiológico anunciaba ya un parentesco real entre los elementos orgánicos; pero solo Remack y Virchow, acertaron á probar la realidad de este parentesco. El elemento hijo procede de un elemento padre por simple partición, partición que sobreviene, por punto general, cuando el crecimiento de la célula progenitora traspasa los límites de su estatura normal. De aquí que haya podido decirse aforísticamente: «la generación es un simple exceso de crecimiento.»

El darwinismo, puesto en tela de juicio por los naturalistas, tiene aquí gallarda confirmación. Las especies celulares, por adaptadas y diferenciadas que estén, ora se levanten á la compleja estructura y nobles actividades del músculo y del nervio, ora vegeten obscuramente en la trama del hueso y del cartílago, ya se distingan por talla gigante como la célula grasienta y el corpúsculo nervioso, ya se reduzcan á la exigua estatura del mielocito y del hematíe, todas ellas tienen el mismo abolengo, la célula ovariana, especie de *archiplason* que por sucesivas diferenciaciones y progresos ha dado margen á la muchedumbre inmensa de familias celulares que pueblan los tejidos.

c—*Concepto orgánico de la célula.* La extrema complejidad de los actos de la vida, aun del más ínfimo elemento, actos que en último término se reducen á movimientos, pero de especies distintas y de

(1) Protoplasm and life. London: 1874.

direcciones varias, como el movimiento nutritivo, circulatorio, nervioso ó de propagación de vibraciones, movimiento de traslación, etcétera, exigen la admisión de partes diferentemente organizadas en el protoplasma, de igual manera que las máquinas de la industria cuando dan lugar á varios trabajos, han menester de órganos distintos para cada uno de ellos.

Nuestro pensamiento es que la célula es una complicada máquina, un organismo verdad, construído de muchos aparatos encargados cada uno de ellos del desempeño de una función particular.

Esta idea es una hipótesis, pero una hipótesis verosímil que la ciencia micrográfica actual vá confirmando y ensanchando. Despréndese de modernos estudios que el protoplasma es algo como el aparato locomotor de la célula, pues está compuesto de fibrillas contractiles anastomosadas entre sí y solidarias en sus movimientos. El núcleo, cuya complicación estructural crece de día en día, puede considerarse como el aparato reproductor de la célula, pues da el primer impulso y parece reglar el fenómeno de la segmentación, tanto directa como *kariokinética*. La capa periférica del protoplasma simboliza el aparato de nutrición del elemento orgánico, ya que sostiene cambios y relaciones contínuas con el medio ambiente y absorbe y segrega, y se impresiona y trasmite, dirigiendo, en suma, todo el comercio de materia y de fuerza establecido entre la célula y el exterior.

Enfrente de la afirmación de Bernard «la vida es antes que la forma,» podríase oponer esta otra: la vida es la forma, pero una forma complicada que engendra funciones complicadas.

Opiniones hipotéticas sobre la construcción elemental de la célula.

Teoría de los microcimas de Béchamp. En estos últimos tiempos ha resucitado, revestida de cierto aparato de pruebas, la casi olvidada hipótesis de las partículas orgánicas de Buffon. Sabido es que este autor consideraba todos los seres compuestos de corpúsculos vivos, especie de moléculas orgánicas, asociadas entre sí para formar el sér colectivo, pero que á la muerte se separan sin perder su vitalidad, dando origen á nuevos organismos. Los zoospermos, los diminutos seres que nadan en el vinagre, en el engrudo, etc., son la representación visible de sus partículas orgánicas, las que cuando el azar

las congrega pueden dar lugar á la construcción de más elevados organismos, como los ascárides, tenia, etc. Según esta manera de ver, la muerte no es la destrucción del sér, sino un cambio de teatro de las partículas orgánicas.

En esta misma opinión añeja de Buffon, pero con mayores alcances y nuevos desarrollos, está calcada la sostenida por Béchamp con el nombre de teoría de los *microcymas*. Llama este autor *microcymas* á esas finas granulaciones que el microscopio denuncia en el protoplasma, en los fermentos amorfos y en la mayor parte de los humores y líquidos de secreción, las que, según él, son seres autónomos, con vida personal y propia.

Hállanse esparcidos estos diminutos seres en el aire, las aguas, las tierras, la creta por ejemplo (microcimas geológicos), y sobre todo, por el cuerpo de los animales, cuyos elementos vivos forman por agregación. La célula es una asociación de microcimas; las actividades celulares derivan de las acciones de los microcimas contenidos en el protoplasma. La acción sacarificante de la saliva, del jugo pancreático, etc., se deben á los microcimas que contienen. Los leucocitos que según Onimus aparecen por espontánea generación en el licor de un vegigatorio, débense igualmente á una convergencia de los microcimas que habitan en ese líquido, etc., etc.

Ocurrida la muerte del sér cuyas células formaban, los microcimas se separan recobrando su autonomía, y evolucionan dando origen á los *coccus, bacterias, bacillus,* etc., que viven en las materias en putrefacción. Consumidas éstas, no sucumben los microcimas, sino que se dispersan por la naturaleza, invadiendo el aire, el agua, las tierras, etc. De ahí las propiedades que estas materias gozan de liquidar el engrudo, determinar fermentaciones, desarrollar microfitos, etc. Microcimas procedentes de los organismos padres se reunen para constituir el óvulo y son la causa eficiente de la evolución. El microcima es perenne, poco menos que inmortal, pues sólo en casos extremos á que no llegan casi nunca las condiciones del medio, se destruyen.

No obstante, Béchamp no se atreve á sostener que los microcimas geológicos ó aéreos procedentes de seres que murieron, puedan reunirse para formar esos mismos seres; solo los más humildes organismos vegetales se construyen de este modo; los demás deben su origen siempre á los microcimas de un organismo de igual naturaleza, acumulados en el óvulo, ó semilla (1).

Teoría de los bioblastos de Altmann (2). Este autor profesa tocante

(1) *Béchamp.* Les microcymas dans leurs rapports avec l'hétérogenie, l'histogenie, la physiologie et la pathologie. Lide. 1882.

(2) *Altmann.* Die Clementar Organismen und itore Beziehung zu den Zellen. Leipzig. 1890.

á la construcción de la célula una opinión análoga á la de Béchamp; solo que sus bioblastos, son granulaciones de relativo grosor y perfectamente observables, usando el método que Altmann recomienda.

Los bioblastos son corpúsculos vivos, de menos de una milésima de milímetro, cuya asociación en colonias da lugar á las células. En éstas habría que considerar partes vivas (bioblastos) y ganga ó zoglea de sostén (substancias líquidas intracelulares, membranas).

Los bioblastos sueltos, autónomos, son llamados *autoblastos,* y *citoblastos* los que se asocian en células. Cuando son esféricos, como en los cocos, toman la designación de *monoblastos,* y si afectan forma alargada, *nematoblastos.* Distingue también Altmann los bioblastos que pueblan el núcleo *(karioblastos),* de los que construyen el protoplasma *(somatoblastos).*

Son asiento los bioblastos de todas las actividades celulares: ellos sintetizan las grasas, ellos determinan fenómenos de movimiento, ellos, en fin, se reproducen por excisión como las células mismas.

En tiempos remotos, los citoblastos fueron autoblastos ó bioblastos autónomos como lo son actualmente las bacterias; pero cuando ulteriormente se confederaron para organizar, primero las *moneras,* luego las *metamoneras,* y finalmente las *células* propiamente dichas, perdieron la propiedad de vivir independientemente.

Esta doctrina meramente hipotética ha sido aceptada por algunos, particularmente por Zoja (1). La existencia en las células de partículas con propiedades químicas especiales es cosa sabida desde los trabajos de Ehlich y de otros autores; y también es un hecho indudable que la cromatina nuclear durante ciertas fases de la kariokinesis, aparece compuesta por granitos independientes capaces de dividirse; pero esto no prueba que tales granulaciones tengan vida personal ni que sean capaces de multiplicarse indefinidamente por excisión.

Teoría del plasón y de las plastídulas de Hæckel. Considera este embriólogo, á semejanza de Huxley, la vida como resultante de la actividad química del protoplasma; pero admite diferencias de complegidad en esta materia según los grados de diferenciación del elemento anatómico. Hé aquí sus va-

(1) *Luigi Zoja.* Intorno al Plastiduli fuchinofili (bioplasti dell Altmann). Paris. 1891.

riedades de materia viviente: 1.º *plason,* es decir, el protoplasma de los citodos, material químico más sencillo que el de las células; 2.º *protoplasma,* materia viviente de mayor complegidad, que forma el cuerpo de las células perfectas; 3.º *cocoplasma,* la substancia que forma por diferenciación el contenido del núcleo. Todavía admite otra variedad, pero más sencilla aún que las anteriores, el *archiplason,* es decir, el protoplasma extremadamente simple, anterior al plason, de que se formaron por generación espontánea los primeros organismos. Tales materias son para Hæckel principios inmediatos solamente, desprovistos de organización verdadera, y sin más extructura y propiedades que las químicas.

Con este concepto químico de la vida, claro es que los fenómenos que tengan lugar en una cierta cantidad de plason, el del citodo por ejemplo, se realizarán igualmente en cada partícula de él; pues lo que es propiedad de un principio inmediato, debe serlo también de cada una de sus moléculas. Y así Hæckel ha sacado lógicamente la consecuencia que encerraba la doctrina protoplasmática, concediendo la vida con todas sus propiedades á la molécula de plason, que él llama *plastidula.*

Es la plastídula una molécula compleja, compuesta de los elementos químicos del plason. La más pequeña porción de plason visible al microscopio, contiene muchos millones de plastídulas. Hállanse estas moléculas separadas entre sí por atmósferas acuosas de cuyo vario espesor depende la variable consistencia del plason. Forman las plastídulas el protoplasma y el cocoplasma, pero adquieren en ellos mayor grado de complicación. De aquí que Hæckel divida sus moléculas en *plastidulos,* las del plason; *plasmódulos,* las que moran en el protoplasma, y *coccódulos,* las que forman el núcleo. Estas últimas son diferenciaciones de las primeras y gozan de nuevas propiedades fisiológicas. A más de los atributos generales de las moléculas inorgánicas (atracción, repulsión, etc.), concede Hæckel á los plastídulos una nueva virtud, *la memoria,* por la cual se distinguen de las demás moléculas orgánicas é inorgánicas. Esta memoria inconsciente explicaría según él la herencia, el hábito, la reproducción, etc. Reconoce además otra muy importante también, la evolutibilidad ó variabilidad, por la cual las moléculas orgánicas se adaptan á nuevas condiciones, modificando sus propiedades originarias, y contrariando las tendencias de la herencia.

No es nuestro ánimo exponer, ni menos discutir en un libro elemental la hipótesis de Hæckel; bastará decir que no se apoya en ningún hecho positivo, que la son contrarios los nuevos descubrimientos citológicos, los cuales, como ya hemos expuesto, lejos de demostrar la homogeneidad del cocoplasma, protoplasma y plason, anuncian, por el contrario, texturas complicadísimas en estas partes. Ni puede contestarse que las plastídulas for-

man cada filamento del *reticulum*, porque sobre ser esto hipotético y gratuíto, siempre será preciso demostrar que una pequeña parte del retículo, ó de la materia interfibrilar, viven por separado, dando lugar á todas ó las más de las actividades de la vida (1).

Teoría de las micelas (Schieffedecker). Las moléculas orgánicas de que se componen las células, agruparíanse en otras moléculas mucho más complejas, las *micelas*, que vendrían á ser las piedras de construcción del edificio celular. Cada micela carecería de vida propia, pero las acciones químicas de los millones de micelas constituyentes del protoplasma y núcleo, darían como resultante la vida celular. Siendo la *micela* una molécula orgánica, es decir, una concepción del espíritu, claro está que cae fuera del dominio de la experiencia, y ni es dable afirmarla ni negarla (2).

(1) Véase para más detalles la obra de Kæckel: Essais de Psychologie allulaire. París, 1880.
(2) *Schiefferdecker u. Kóssel.* Gewebelehre, & Zweiter Band. 1891.

CAPÍTULO II.

Estudio de la célula en particular.—Caracteres físico-matemáticos de la célula.

A fin de metodizar el estudio de la célula, dividiremos los caracteres de ésta en *físico-matemáticos, orgánicos ó anatómicos, químicos,* y *fisiológicos.*

Caracteres físico-matemáticos.

1—**Individualidad.** En general las células se distinguen bien entre sí, hallándose separadas ó por una materia fundamental de propiedades físico-químicas especiales, ó á favor de membranas de envoltura. Los elementos conjuntivos, óseos, cartilaginosos, grasientos, cuéntanse entre los que aparecen con una personalidad bien distinta; pero esta individualidad no se marca con igual claridad en otras células, por ejemplo, las nerviosas, las corneales, las conectivas pigmentarias, las malpigianas, etc., en razón á que están enlazadas ó anastomosadas recíprocamente, formando verdaderas redes celulares. La dificultad sube de punto en las células multinucleares como la fibra muscular, la mieloplaxia, el glóbulo purulento, etc. Si, en la determinación de la personalidad de estas células, utilizamos el criterio anatómico ó de la separación, cada fibra muscular y cada mieloplaxia constituirán un solo elemento. Pero si entendemos que cada núcleo representa una personalidad independiente, como algunos histólogos quieren, entonces aquellas células serán un agregado de elementos con núcleo separado y protoplasma continuo, afirmación contraria á lo que de consuno nos enseñan la anatomía, la histogenia y la fisiología. La anatomía nos demuestra que cada fascículo está individualizado por una membrana análoga á la cubierta celular y que el protoplasma estriado no ofrece discontinuidad en torno de los núcleos. La fisiología nos da á conocer que

la terminación nerviosa es única en cada fibra y uno el acto de la contracción; y la histogenia nos pone de manifiesto que la fibra contractil es el resultado de la diferenciación y crecimiento de una sola célula embrionaria.

En casi todos los casos la individualidad celular no se funda en sólo un dato, sino en varios. Estos son: separación completa ó incompleta del cuerpo celular *(criterio anatómico)*, individualidad patente de la célula en la época embrionaria *(criterio genético)*, unidad funcional indudable *(criterio fisiológico)*.

Por lo demás, las células anastomosadas representan el tránsito de la individualidad á la *plasmodia*, característica de ciertos organismos vejetales inferiores, y su fin no es otro quizás que establecer una estrecha solidaridad funcional entre todas las células asociadas.

Las células multinucleares representan elementos en vías de multiplicación, la cual ha sido detenida para fines especiales (1).

2—**Volumen.** (Figs. 24 y 25). La estatura de los elementos anatómicos oscila en límites muy extensos. Los hay visibles á la simple vista como el óvulo maduro, y las células nerviosas multipolares de la médula de los grandes mamíferos; pero la mayor parte de las células son microscópicas. Por este motivo han tenido necesidad los histólogos que adoptar una unidad de extensión que pudiera convenir á todos los corpúsculos orgánicos, ó á su inmensa mayoría: esta unidad es la milésima de milímetro ó *micra*, que se expresa por la letra griega μ. Para la medición de filamentos tan delgados como los del *reticulum*, las hebras del tejido conectivo, las granulaciones, los microbios más diminutos, etc., la milésima de milímetro no basta; es preciso adoptar la diezmilésima: ciertos histólogos emplean esta unidad para todos los elementos.

En tres razas, bajo el punto de vista de la talla, cabe dividir los corpúsculos orgánicos: *células jigantes, células medianas y células enanas*. Para las primeras, la unidad de medida será la centésima de milímetro, y la milésima para las segundas y terceras.

(1) Heitzmann, profesa la singular opinión de que todos los elementos se hallan anastomosados formando una red contínua. El cuerpo de un animal vendria á ser, según esta creencia, un solo protoplasma multinuclear, y como este autor considera el protoplasma como una masa formada de filamentos anastomosados en red, los seres vivientes podrían comprenderse bajo la siguiente fórmula anatómica: un *reticulum* fibrilar dentro de un *reticulum* celular.

a.—*Razas jigantes*. (Fig. 24). Las células más grandes que pueblan los tejidos son las células musculares, que, si hemos de dar fe á las mediciones de Krause, alcanzan una estatura de 2 á 3,5 centímetros; vienen después los tubos nerviosos con una altura de 1 á 1,5 de milímetro, el óvulo con 2 décimas, las fibro-células cuya longitud pasa muchas veces de 1 décima de milímetro, la célula nerviosa multipolar de la médula, cuyo diámetro se aproxima y aun

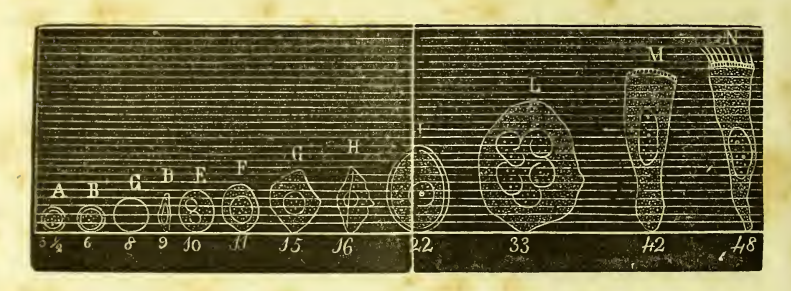


Fig. 24.—Representa la estatura comparada de varios elementos anatómicos. Cada espacio interlineal vale 2 milésimas de milímetro. Al margen está inscrita la estatura de cada célula en milésimas.—A. Corpúsculo linfático. B. Mielocito cerebeloso. C. Hematie. D. Corpúsculo óseo. E. Leucocito. F. Medulocele. G. Célula glandular. H. Célula conjuntiva. J. Célula cartilaginosa. L. Mieloplaxia. M. Célula cilíndrica intestinal. N. Célula cilíndrica con pestañas.

pasa de 100 milésimas, y por último, la célula adiposa adulta que suele alcanzar más de 50 μ, etc.

b.—*Razas medias*. Pertenecen á ella los elementos nerviosos ganglionares y cerebrales más altos, cuyo diámetro oscila entre 20 y 50 milésimas, las mieloplaxias con una talla variable entre 20 y 60 μ, las células endoteliales del mesenterio y demás serosas que alcanzan más de 30 μ en uno de sus diámetros, las células pavimentosas del epitelio bucal con 30 á 40 μ etc.

c.—*Razas enanas* (Fig. 25). La talla de éstas fluctúa entre 4 y $^1/_2$ y 20 μ. Es notable por su pequeñez el corpúsculo linfático de los folículos con 5 μ, el hematie con 7 á 8, el corpúsculo óseo con 7 á 10, el leucocito con 10 á 12, la célula conectiva con 14 á 20, la cartilaginosa y epitelial cilíndrica con 20 á 24 ó más, etc.

Es imposible establecer rigurosamente las estaturas de las células; varían no ya sólo de un animal á otro, sino también dentro de

un mismo tejido, y en un mismo sujeto. Son, pues, estas estaturas términos medios bastante aproximados á la realidad, pero nunca exactos, pues para esto se precisaría medir todas las células de un tejido y sacar el promedio, lo cual es impracticable.

Algunas de las células que en el hombre y mamíferos alcanzan escaso desarrollo, ofrecen en los animales inferiores notable tama-

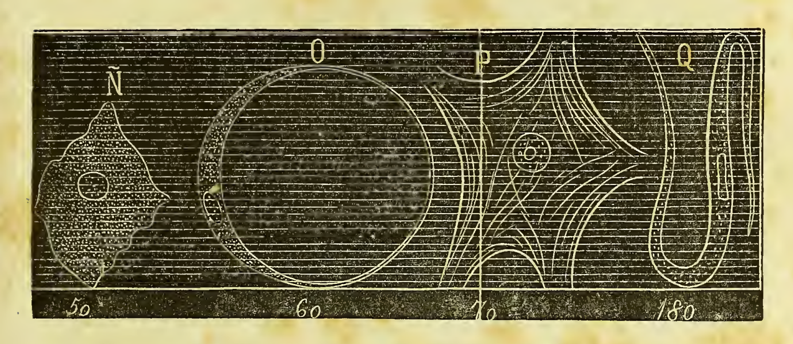


Fig. 25.—Continuación de la anterior figura. Ñ, es una célula endotelial; O, un corpúsculo grasiento; P, un elemento nervioso; y Q, fibra muscular lisa.
La escala del aumento, igual para las dos figuras, es de 1.000 por 1.

ño. Así la célula glandular que en el hombre no suele pasar de 20 milésimas á lo sumo, llega en los tubos malpigianos de las larvas de los insectos á 150 milésimas y más. Las células del intestino de los vertebrados que no pasan de 25 á 30 μ, adquieren en el cloporto una longitud de 100 á 120 μ. Exceden en mucho á las estaturas de las células epiteliales, cartilaginosas, hemáticas, etc., de los mamíferos, las análogas de los batrácios, especialmente de las larvas de la *salamandra maculata, triton cristatus, proteus,* etc. Estos animales entre los vertebrados, los insectos entre los articulados, y las *liliáceas* entre las plantas gozan del privilegio de las grandes estaturas celulares y nucleares.

3—**Forma de las células.** A—*Forma originaria.* Los corpúsculos embrionarios son generalmente esféricos, lo son también casi todas las células recién engendradas en los tejidos adultos. Sin embargo, no es raro que la célula ofrezca desde un principio una forma aplanada, oval, semilunar, poliédrica, etc.; esto sucede con las cé-

lulas originadas de la proliferación de un elemento ya diferenciado; así las células pavimentosas simples dan lugar por excisión á dos células también pavimentosas, la cartilaginosa á dos elementos semiesféricos ó semilunares, etc. En estos casos la forma originaria se confunde con la forma de adaptación.

B—*Forma definitiva.* Es la que muestran los elementos cuando han llegado al *summum* de su desarrollo.

La forma definitiva depende, á nuestro modo de ver, de dos órdenes de condiciones: externas é internas; las primeras determinan la variación por adaptación al medio, las segundas la variación por evolución y diferenciación celular. Estas últimas de origen interno se confunden con la causa de la vida, siendo quizás dependientes de la especial estructura del elemento orgánico.

a—*Transformación por condiciones externas.* Las células gozan de cierta plasticidad ó maleabilidad por virtud de la cual, sin menoscabo de su estructura y actividades esenciales, pueden adaptarse al medio orgánico, siempre que en éste concurran regulares condiciones nutritivas. Esta propiedad es igual á la facultad de adaptación de los organismos independientes. Las causas transformadoras de las células son mecánicas ó químicas. Las presiones, ya de origen exterior, ya de origen interior, los frotamientos y estiramientos, la presión convergente determinada por crecimiento de células vecinas, corresponden á las primeras. La influencia del aire, la desecación, la hidratación, la acción de los ácidos y álcalis de los alimentos y bebidas, pertenecen á las segundas.

Citaremos algunos ejemplos para que pueda comprenderse hasta qué punto, las condiciones mecánicas del medio exterior é interior, pueden transformar los elementos orgánicos. Cuando se examina un corte perpendicular de la piel, se observan en él varias capas: la más profunda la forman células cúbicas ó prismáticas; las células de la capa situada inmediatamente por encima son de forma poliédrica; los corpúsculos de capa más alta, poliédricos también, pero con un cierto aplanamiento que se exagera paulatinamente á medida que, por virtud del nacimiento de nuevas capas, son aquéllos impelidos á estratos más snperficiales; por último, los más altos residentes en las mismas fronteras del mundo exterior, en el epidermis córneo, son verdaderas escamas. La influencia constante de las presioues exterio-

res, y, sobre todo, la desecación por la acción del aire atmosférico, son indudablemente las causas que principalmente determinan el aplanamiento de estos corpúsculos malpigianos, primitivamente prismáticos. Todas las células que muestran las formas llamadas pavimentosas, residen en parajes donde las colisiones y conflictos con los agentes exteriores son tan frecuentes como violentas, por ejemplo, el epitelio bucal, exofágico, vaginal, etc. Las células de los cartílagos articulares muestran parecida disposición: los elementos profundamente empotrados en la materia fundamental poseen una forma esferoidal ú ovalada, en tanto que los que habitan cerca de la superficie libre y se hallan, por consecuencia, más expuestos á la acción de las presiones y frotamientos de las palancas óseas, presentan una forma aplanada y un cierto grado de atrofia. Las células glóticas, sometidas á violentas corrientes de aire y, por ende, á rápida evaporación, se aplanan igualmente, á pesar de residir en medio de un epitelio cilíndrico vibrátil. Los elementos endoteliales de las serosas y de los vasos deben muy probablemente también su aspecto laminar á los frotamientos y presiones. El choque de la ola sanguínea puede estirar las células de los vasos y darles la forma romboidal alargada en el sentido de la corriente que les es característica. La célula fija del tejido conectivo, se moldea á los fascículos y sus espacios. Por último, es también de notar la configuración aplanada del hematíe que recuerda la del canto rodado, debida verosímilmente al desgaste y frotamiento continuos sobre las paredes vasculares (1). Si los glóbulos blancos que circulan también al lado de los rojos conservan su forma esférica ¿será porque gozan de gran energía vital y luchan constantemente contra las fuerzas deformantes? También podría explicarse suponiendo (lo cual es muy verosímil) que los leucocitos son células jóvenes sujetas á rápida renovación, las que por su corta permanencia en la sangre no han podido todavía deformarse pasivamente.

Cuando varios elementos anatómicos concurren en un mismo

(1) Es posible se deba la forma del hematíe á causas químicas también, si no exclusivamente. Lo cierto es que un ligero espesamiento del plasma da al hematíe una forma estelar, la acción del agua lo vuelve esferoidal, una tempetatura de 55° lo fragmenta en pequeñas esferas, etc.

plano y crecen hasta encontrarse, se deforman recíprocamente, tomando forma cúbica ó poliédrica. Esto sucede en muchos epitelios y glándulas: si las presiones se equilibran en todos sentidos, la célula adquirirá la forma de un poliedro más ó menos regular; mas si la resistencia es menor en un sentido que en otros y el crecimiento de las células no ha terminado, el cuerpo celular se alargará, adquiriendo una forma cilíndrica ó prismática. Tal sucede con las células cilíndricas del intestino y las pestañosas de la tráquea y bronquios, que se estiran creciendo hacia la superficie libre de la mucosa, es decir, en el sentido de la menor resistencia.

b.—*Variación por condiciones interiores.* Sería de desear que todas las formas celulares pudieran explicarse por procesos mecánicos análogos á los descritos; pero por desgracia hay muchos elementos, cuya forma adulta no puede achacarse solamente á la acción de causas exteriores. ¿Por qué las células nerviosas se presentan asteriformes y crecen tan desmesuradamente que sus expansiones funcionales alcanzan los confines del mundo exterior? Ni las presiones, ni las desigualdades nutritivas, pueden explicar tan extraño fenómeno morfológico y evolutivo. Las fibras musculares, las fibras cristalinas, etcétera, crecen y adquieren *ab initio* una forma alargada, que no obtienen elementos de igual procedencia y sometidos á iguales condiciones externas. En la médula del hueso viven juntas, y bajo las mismas circunstancias mecánico-nutritivas, las mieloplaxias, células aplanadas gigantescas, y los meduloceles, células enanas y redondas, etcétera. Preciso es reconocer aquí otros resortes más íntimos, algo que determina la evolución y diferenciación de la célula, que marca de antemano la forma, el tamaño y la estructura que deberá adquirir con el tiempo. Serán quizás estas condiciones interiores causas mecánicas también, pero en el estado actual de la ciencia es imposible ni siquiera conjeturar cuáles puedan ser éstas y cuál el modo de su acción.

En suma, la forma de las células es una resultante entre la acción de causas mecánicas exteriores y condiciones interiores; una suerte de equilibrio ó transacción entre la forma arquetípica, á la que por ley evolutiva propende todo elemento, y la acción alterante de las fuerzas exteriores. Algo semejante á esa lucha entre la forma y la fuerza de que es teatro el mundo inorgánico, y por el

cual el romboedro de carbonato de cal de brillantes facetas degenera en simple y vulgar canto rodado.

c—*División de las formas celulares.* A pesar de su infinito número, pueden reducirse á los siguientes tipos generales: 1.° *formas aplanadas* (glóbulos rojos, célula conjuntiva, endotelios, epitelios pavimentosos extratificados, etc.); 2.° *formas prismáticas* (células cilíndricas y cúbicas de las glándulas mucosas, músculos); 3.° *formas esferoidales* (las células embrionarias, leucocitos, cartilaginosas, meduloceles, etc.); 4.° *formas estelares* ó de estrella (las nerviosas, las del tejido conectivo mucoso, pigmentario, corneal, etc.); 5.° *fusiformes* (ciertas células conectivas, las fibrocélulas de Kœlicker ó fibras lisas, la célula ósea, etc.); 6.° *poliédricas* (muy abundantes en los epitelios extratificados, en el tejido adiposo, nervioso ganglionar, etc.)

5.—**Consistencia.** Las células vivas y jóvenes poseen una consistencia semisólida, que aumenta después de la muerte, por causa de la coagulación del protoplasma. Los elementos transformados y degradados adquieren en ocasiones una dureza notable, por ejemplo: las células de las uñas, de los pelos y del esmalte. La degeneración del protoplasma acarrea no pocas veces un gran rebajamiento de la consistencia normal; tal sucede con las células invadidas por la mucina y la substancia coloide.

En general, el aumento ó disminución de la consistencia normal de las células implica una alteración anatómica y fisiológica de las mismas, una verdadera enfermedad.

6.—**Elasticidad.** Aunque esta propiedad es común á todos los corpúsculos orgánicos y substancias amorfas, hay células que la poseen en alto grado, tales son las células musculares y los hematíes. A la expresada cualidad es debido que las fibras musculares vuelvan instantáneamente á su posición primitiva una vez cesada la contracción; gracias á su extrema elasticidad pueden los hematíes estirarse y doblarse para penetrar en los capilares más finos, sortear toda clase de obstáculos, y aun escapar del vaso por imperceptibles aberturas de la pared endotelial, recobrando inmediatamente después su forma discoidea.

Nótese que el predominio de ciertas cualidades físicas, por ejemplo, la elasticidad y la consistencia, parecen en cierto modo estar

en razón inversa de las propiedades fisiológicas; por esto la elasticidad se presenta de modo preferente en las substancias muertas (fibras elásticas, membrana glandular, sarcolemática) y en las células inertes (hematíes, corpúsculos córneos).

7.—**Color.** La mayor parte de los elementos anatómicos son incoloros y transparentes, y lo son tanto más cuanto menos substancias extrañas contienen. La extremada opacidad de algunas células depende de la presencia de multitud de gotas grasientas, granulaciones proteicas, melánicas, fermentos, etc. Así que la destrucción de estos cuerpos por los reactivos proporciona al protoplasma una gran diafanidad.

Entre los elementos coloreados, son de notar por su matiz amarillento los hematíes y algunos meduloceles, teñidos por la hemoglobina; y las células musculares y grasientas coloradas probablemente por un principio análogo.

Los hay de color negro, pardo ó moreno-amarillento, como las células nerviosas y las pigmentarias, cuyo protoplasma contiene granulaciones de melanina.

Los conos de la retina de las aves muestran corpúsculos de un rojo vivo ó anaranjado.

En los mamíferos y batrácios muéstrase también coloreada la retina, pero por una tinta roja difusa. Este rojo retiniano, que fué descubierto por Boll, ha recibido el nombre de *fotoestésina,* por la singular propiedad que posee de ser sensible á la luz á la manera de la placa fotográfica.

Son notables en el reino vegetal las espléndidas coloraciones de los elementos de las hojas y de las flores, debidas á la presencia de materias colorantes acumuladas bajo la forma de gránulos. La más importante de todas es la *clorofila,* de color verde, engendrada por los *cromoleucitos* del protoplasma; la *xantofila,* de color amarillo, residente en las hojas de las *etioladas;* la *eritrofila* y *autocianina,* principios colorantes de las flores, etc.

CAPÍTULO III.

Caracteres orgánicos de la célula.—Estructura.

La célula perfecta se compone de cuatro partes ó formas distintas: el protoplasma, núcleo, nucleolo y membrana de cubierta. Ocupémonos separadamente de estos factores celulares, según el orden de su importancia relativa.

Protoplasma.

Esta palabra se usa hoy para designar la materia proteica de composición compleja que separa el núcleo de la membrana (1). Esta significación difiere un tanto de la que tuvo en un principio, cuando H. Mohl la introdujo (1846) en el lenguaje biológico: usóse entonces para caracterizar el líquido que llena las vacuolas del cuerpo de la célula vegetal antes de la formación del utrículo primordial y de la deposición de los leucitos. Remack y Schültze, al importar de la botánica á la zoología este vocablo, desviáronlo de su originario sentido, aplicándolo á la masa sólida ó semisólida que constituye el cuerpo de las células, con excepción del núcleo. Posteriormente la palabra ha llegado á adquirir bajo la pluma de algunos escritores (Huxley), un significado más lato todavía, pues con ella se han designado las células vivas y muertas, las materias intercalares y hasta las materias alimenticias de toda suerte.

Hoy se da el nombre de protoplasma á esa masa semisólida, de aspecto granuloso, de composición química compleja y en gran par-

(1) El vocablo *protoplasma* deriva de dos palabras griegas, πρῶτος, primero, y πλαςμα ó πλαςςειν, dar forma; designa, pues, la primera formación de la célula. El protoplasma se conoce también por otros nombres: *plasson*, por Van Bencden, *bioplasma* ó materia germinal de Beale, *base física de la vida*, de Huxley, etc.

te albuminoide, que rodea al núcleo, constituyéndole una envoltura de espesor variable.

1.—**Cantidad de protoplasma.** No falta este factor celular en ningún elemento vivo; los que parecen desprovistos de él lo tienen siempre, bien que en delgadísima capa.

La cantidad de esta materia es sumamente variable. Notable en las células embrionarias y en muchos elementos adultos como la célula nerviosa, la glandular, la ovárica, es muy escaso en los corpúsculos ancianos y en algunas especies celulares vigorosas, por ejemplo: el corpúsculo linfático, la célula grasienta, la célula ósea, etc. En general, la falta ó escasez del protoplasma anuncia la muerte ó el rebajamiento de las actividades fisiológicas de la célula. El hematie que carece de protoplasma es una célula muerta; el leucocito que lo posee en abundancia goza de enérgica vitalidad.

2.—**Aspecto del protoplasma bajo escasas amplificaciones.** Examinado el protoplasma de un corpúsculo vivo bajo una amplificación que no pase de 300 diámetros, ofrece el aspecto de una masa transparente, llena de ciertas asperezas, puntos ó granulaciones, no muy rigurosamente contorneados, de forma y magnitud variables y que se han considerado como característicos del protoplasma vivo, por más que las presentan también los núcleos y nucleolos.

Algunas veces se perciben en él dos zonas: una periférica más homogénea y transparente, con pocos gránulos; y otra interna fuertemente granugienta, que engloba en ocasiones cuerpos extraños. Ciertas especies celulares (las del cuerpo de Malpigio, las epiteliales pavimentosas de la boca) ofrecen además otra zona situada inmediatamente al rededor del núcleo, más clara y más finamente granulada, que la anterior. Son de notar también en algunos corpúsculos que gozan de movimientos de locomoción (leucocitos, amibos), y aun en los inmóviles (células glandulares), ciertos espacios claros, redondos, tan rigurosamente contorneados como los límites exteriores del protoplasma, y al parecer, llenos de un líquido límpido. Estas partes se llaman *vacuolas,* y se consideran como huecos circulares, debidos á la retracción del protoplasma. Las vacuolas constituyen una disposición importante de la célula vegetal, donde adquieren tal desarrollo, que concluyen por extenderse por todo el cuerpo celular, obligando á los restos del protoplasma con el núcleo á

formar una capa delgada por debajo de la membrana de cubierta. En estas grandes vacuolas se encierran los leucitos y los materiales debidos á su actividad secretoria, á saber: la clorofila, el almidón, el aleurona, las grasas, etc.

Productos extraños se manifiestan también, bajo la forma de granulaciones gruesas, en el cuerpo de las células animales. El protoplasma de los corpúsculos hepáticos encierra gránulos de glicógena y materia colorante biliar; la célula pépsica, granulaciones de pepsina; los elementos de la glándula mamaria, gotas de grasa; las células epidérmicas, granulaciones de eleidina, etc.

Células hay en que casi todo el protoplasma ha sido sustituído por materias extrañas; ejemplo: el hematíe, formado de hemoglobina; la célula pilosa, de keratina; la cristalina, de globulina.

Despréndese de lo expuesto, que el protoplasma es un todo compuesto de muchas cosas, y en el cual cabe distinguir por lo menos tres partes principales: 1.° *jugo celular* (el líquido que empapa el cuerpo de la célula y aparece libre en las vacuolas); 2.° *las inclusiones* (granulaciones de toda especie, proteicas, grasientas, cuerpos extraños englobados); 3.° *protoplasma fundamental* (materia semisólida susceptible de contracción que rellena los espacios intergranulares). O en otros términos: 1.° materia viviente (protoplasma fundamental); 2.° pábulo nutritivo (jugo celular); 3.° productos de secreción y de excreción (granulaciones celulares). 4.° A estas partes es preciso añadir la existencia de un corpúsculo especial, el *centrosoma* (Boberi) *corpúsculo polar* (van Beneden), que según recientes experiencias, puede darse como factor constante de la construcción del protoplasma. Más adelante nos ocuparemos de él.

3.—**Textura del protoplasma.** Sometido el cuerpo de las células de gran tamaño á los poderosos aumentos que resultan de los objetivos de inmersión, pronto se advierte que el aspecto granuloso del protoplasma encubre una textura más íntima: las granulaciones al parecer independientes no son, al menos en su mayor parte, otra cosa que engrosamientos ó recodos de multitud de fibrillas. Se echa de ver también que las fibrillas corresponden á aquella parte fija y constante del protoplasma, llamada *hialoplasma* por Hanstein, que nosotros hemos designado protoplasma fundamental, y se perciben al mismo tiempo, ocupando los espacios interfibrilares, aquellas

otras dos materias mencionadas: el jugo celular y las inclusiones; con lo que la anterior división de las tres partes protoplasmáticas halla plena y decisiva confirmación.

a.—*Retículo* (1) (*mitom* de Flemming.) Justo es confesar que el protoplasma de las células enanas de los mamíferos, no revela el menor rastro de estructura, aun bajo los más potentes aumentos; y así se explica que histólogos como Kollman, Strasburger, Henle, Ranvier, etc., afirmen en modernos libros la hialinidad de la célula. Pero si elegimos, como objetos de estudio, las grandes células nerviosas del buey, las mieloplaxias del sarcoma mieloide, las células gigantes del cáncer epitelial, las musculares lisas y estriadas, y, sobre todo, las células colosales del intestino de las larvas de los insectos y crustáceos, óvulos y células testiculares de los articulados, etc., forzoso nos será reconocer una disposición fibrilar intrincada del protoplasma.

Hé aquí, por vía de ejemplo, cómo se comporta el retículo en algunas células especiales.

El mejor objeto para la demostración del *reticulum* es, sin disputa, la célula epitelial del intestino del *Oniscus asellus,* pequeño crustáceo, vulgarmente llamado *cochinilla de humedad,* que vive bajo las piedras de los parajes húmedos.

(1) La nomenclatura de esta parte de la elementología se complica por cada día. Para que, en esta confusión de palabras, nuestros lectores sepan á qué atenerse, ponemos á continuación las equivalencias de los términos más usados.

Kuffer llama á los hilos del *reticulum, protoplama* y á la substancia interfibrilar, *paraplasma.*

Flemming designa los filamentos con la palabra *mitom* (de la griega μιτοσ hilo) y con la de *paramitom* la materia interfibrilar. Usa también con frecuencia, como sinónimas de las anteriores, las expresiones: *faden* (hilos) y la de *masa interfilar.* Hanstein usa los vocablos *hialo plasma* para los hilos, *enquilema* para la substancia interfibrilar, y *microsomata* para los gránulos de inclusión.

Strasburger confunde todas las partes de la célula bajo una sola denominación, *el protoplasma;* núcleo, retículo, leucitos del corpúsculo vegetal, todo en fin lo que goza de propiedades vitales, recibe la misma designación.

Brucke, Stricker y Toldt, emplean la expresión *substancia celular* ó cuerpo celular para nombrar el protoplasma sin distinción de partes.

Klein usa la palabra *red (network)* para caracterizar los filamentos.

Carnoy usa el término *reticulum,* para designar los hilos del protoplasma; *enchylema,* para nombrar la materia interfibrilar, y el de *enclaves,* (empotramientos ó englobamientos) para caracterizar las granulaciones independientes del retículo.

Nosotros usaremos indistintamente las palabras *armazón, reticulum,* filamentos, para designar los hilos: *jugo celular* ó *enquilema,* para la substancia fibrilar, y el vocablo *inclusión* para las materias inertes contenidas en el cuerpo celular.

Colocando un pedazo del intestino de este animal en un porta-objetos con una gota de humor ácueo de rana, y examinándole con aumentos variables entre 400 y 800 diámetros, advertiremos unas grandes células de 100 á 120 μ. de forma cuadrilonga, que revisten á manera de un pavimento la superficie interior del intestino. Ostentan grandes núcleos fuertemente granulosos, y están cubiertas en su cara interna por una fuerte membrana basal que recuerda la de las células cilíndricas con chapa del intestino de los mamíferos. Enfocando cuidadosamente el plano más superficial del protoplasma, nos llamarán la atención unas hebras de 1 á 2 μ. de diámetro, ligeramente varicosas, de gran refringencia,. que se cruzan en varias direcciones y se anastomosan entre sí para formar mallas poligonales; su dirección predominante es desde el núcleo á la cubierta celular, donde al parecer toman inserción, y cerca de cuyo punto son más claramente visibles.

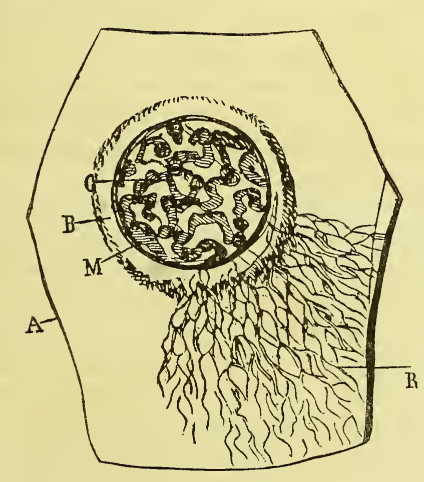


FIG. 27.—Célula de un tubo de Malpigio de una larva de muscido: coloración y examen en solución acética del verde de metilo.—A, membrana celular; G, filamento ó glomérulo del núcleo; M, membrana de cubierta nuclear; R, retículo de la célula, el cual ha sido dibujado sólo en un trozo del protoplasma.
Aumento.—600 diámetros.

Pero donde los hilos del *retículum* aparecen clarísimos, es en los bordes de las células desgarrados durante el manual operatorio. En estos puntos se ven hilos completamente aislados, poco ó nada anastomosados, grande longitud, con un aspecto varicoso que á primera vista recuerda la fibrilla muscular. Estudiando bien estos parajes se comprende que muchas de las anastomosis ofrecidas por el retículo *in situ* son aparentes y resultan del replegamiento y superposición de los hilos.

Las células testiculares del *Oniscus,* y aun las ovulares, ofrecen también un tamaño que

consiente la percepción del *reticulum,* mas no son tan ventajosas como las del intestino.

Después del *Oniscus,* los animales cuyas células se prestan más al análisis de los filamentos, son la larvas de los insectos. En estos extensos y poco explorados dominios es donde Carnoy ha comprobado la textura celular descubierta en la salamandra por otros histólogos, añadiendo importantes descubrimientos.

Los corpúsculos de los tubos de Malpigio, las células que tapizan el intestino, los elementos cutáneos y las células musculares y ovulares de las larvas jóvenes de los *muscidos, nemóceros y lepidópteros* son los que, por su elevada talla, muestran con más claridad la textura filamentosa. Nosotros la hemos comprobado especialmente, en las células de los tubos hileros de los *lepidópteros,* y en los conductos de Malpigio é intestinales de las larvas de la *musca carnaria.*

Si, desechando las células de los articulados, nos acogemos á los elementos de los vertebrados, podremos demostrar con igual facilidad la referida disposición del protoplasma. La célula cartilaginosa de la salamandra, los corpúsculos epiteliales de la boca de este animal, la célula hepática de la rana, y, sobre todo, las células nerviosas y óvulos de los mamíferos nos presentan un ancho campo de comprobación de la expresada estructura.

En los epiteliomas pavimentosos, y en el seno de las zonas epiteliales vecinas á los globos epidérmicos, se descubren á veces células de notable estatura, de gran transparencia y con una textura fibrilar tan evidente que se impone á la vista del observador menos experto (Fig. 28, B). Son de notar en estas fibras: su gran refringencia, por la cual son muy visibles aun en las preparaciones conservadas en la glicerina, su contorno extremadamente correcto, y su dirección casi rectilínea y paralela. Distínguense estas hebras de las unitivas de los bordes (que también aquí se las halla como en las normales del cuerpo de Malpigio) en que son más delgadas y menos refringentes.

Los elementos más pequeños del cuerpo de Malpigio normal dejan ver, aunque con menos claridad, dicha disposición fibrilar.

Aunque no tan evidente, es digno de estudio también el armazón filamentoso del protoplasma de las grandes mieloplaxias del sarcoma mieloide (Fig. 30). En el seno de una materia granulosa ó

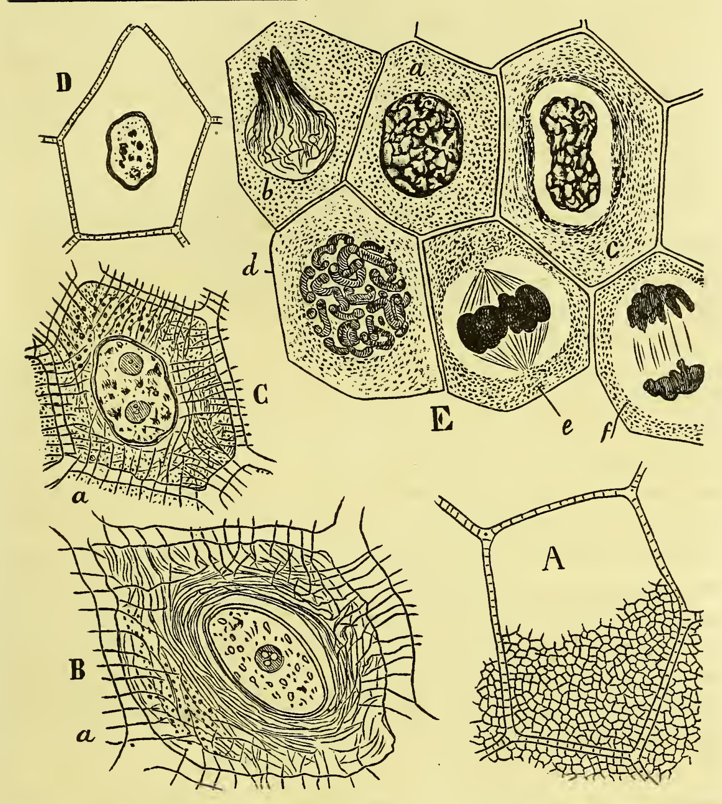


FIG. 28.—A. Célula superficial del epidermis de una larva de salamandra maculosa, en la cual se percibe un correcto retículo que se continúa con el de las células vecinas por medio de anastomosis escaleriformes.

B. Célula gigante de un epitelioma del labio inferior del hombre. Nótanse en *a*, los hilos de comunicación que, una vez cerca del núcleo, constituyen una zona de hebras concéntricas. En un lado del protoplasma aparece un punteado que corresponde á los hilos comunicantes seccionados transversalmente.

C. Célula del cuerpo de Malpigio de la piel. Vense en *a*, las hebras anastomóticas que parecen converger al núcleo y continuarse con las del lado opuesto.

D. Una célula profunda del epitelio lingual del conejo. En su periferia se notan finos puentes de comunicación con los corpúsculos vecinos.

E. Células del epitelio corneal anterior de la rana en las que se demuestra la textura nuclear y se advierten fenómenos de partición directa é indirecta; *a*, célula con núcleo normal al parecer reticulado; *b*, núcleo semejante al anterior, estirado por disociación; en él se muestra un hilo continuo por lo menos en gran parte, y una cubierta acromática; *c*, núcleo en via de partición directa; la membrana nuclear se ha hecho invisible y el protoplasma ofrece dos zonas: una interior diáfana, y otra exterior granulosa; *d*, célula con filamentos cromáticos distintos que representa la fase de la segmentación del glomérulo de la partición kariokinética; *e*, fase de placa ecuatorial donde no se perciben hilos cromáticos, sino una masa con circunvoluciones coalescentes; *f*, fase de las estrellas hijas. Preparación teñida en fsesco por el verde de metilo acetificado. Aumento 1.600 diámetros.

jugo celular muy rico, nótanse algunas hebras entrecruzadas en plexo, cuyo trayecto no puede seguirse sino en cortísima extensión, sin duda á causa de la opacidad del enquilema. Para este examen se precisa practicar cortes extremadamente delgados de las células y tratarlos por soluciones colorantes acéticas. La digestión artificial conviene especialmente aquí.

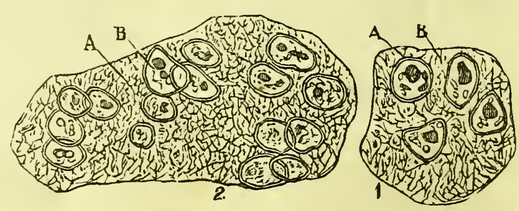
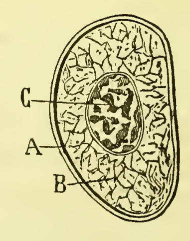


Fig. 30.—Mieloplaxias de un sarcoma mieloide de la mandíbula. (Alcohol, picrocarminato, glicerina.)—1. A, núcleo provisto de su membrana; B. fibrillas del protoplasma.—2. A, retículo formado por fibras entrecruzadas; B, núcleo con pedazos de nucleina en su interior. Aumento, 600 diámetros.

Los elementos cartilaginosos de la rana tratados por el ácido ósmico y luego impregnados en agua acética, son excelentes objetos de comprobación del *reticulum*. A nuestro juicio, lo muestran mejor que la célula hepática de la rana tan preconizada por Kuffer y Flemming. En cortes muy delgados se descubren en el protoplasma unos cordones de media á 1 milésimas, que recorren en curso tortuoso el espacio que media entre el núcleo y la cubierta. La superposición de los hilos da al conjunto aspecto reticulado. Entre las mallas ó espacios residen gotitas de grasa y una materia semi-líquida que engloba granulaciones grisáceas. Fig. 31.

En general, las fibras del retículo se distinguen en el seno del enquilema por su alta refringencia. No son colorables selectivamente por los agentes tintóreos; el carmín, el ácido pícrico, las anilinas, etc., colorean por igual las fibras y la substancia intercalar; sólo la hematoxilina y á veces el verde metileno ácido pa-



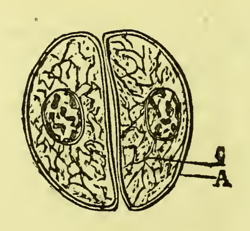


Fig. 31.—Células cartilaginosas de la cabeza del fémur de la rana, tratadas por el ácido ósmico y verde metileno ácido. —A, cápsula celular; B, retículo protoplasmático; C, filamento de cromatina enfocado solamente por su cara superior, presentando estrechamientos y partes engruesadas que son los nucleolos.

recen teñirlas con preferencia á aquélla, bien que muy débilmente. La substancia de los filamentos parece ser la plastina de Reinke; al menos así autorizan á pensarlo las propiedades químicas de los mismos. Resisten á los ácidos diluídos (acético y clorhídrico), al licor digestivo artificial y á las soluciones alcalinas.

El alcohol, el ácido crómico y ósmico no alteran sensiblemente el *reticulum;* actúan más bien sobre la materia interfibrilar cuya densidad aumentan, determinando coagulaciones.

Podemos, pues, después de lo expuesto, considerar la textura fibrilar del protoplasma como un hecho general de organización, hoy bien demostrado, tanto en las células animales como en las vegetales. Y no cabe achacar esta testura, como objetaba Henle, á coagulaciones ó precipitaciones fibrilares ocurridas en el protoplasma por virtud del empleo de reactivos, pues se ha probado que existe en las células vivas. Flemming ha demostrado los hilos en los corpúsculos cartilaginosos vivos de la salamandra, en las hepáticas de la rana, en el óvulo, etc.

b—*Jugo celular ó enquilema.* Es la materia semilíquida y transparente alojada entre las fibrillas del retículo.

Las propiedades físico-químicas de esta materia, son muy poco conocidas. Se sabe que es colorable por el carmín lo mismo que los hilos, y que bajo la acción del suero yodado adquiere más intensidad de color que el retículo. Una solución al 1 por 100 de ácido hidroclórico, la hincha primero y la disuelve después. La coagulan el ácido ósmico, el alcohol, el ácido crómico, etc.: acción que explica el aumento de consistencia del protoplasma bajo la influencia de estos reactivos.

Aunque se supone que el jugo celular es de consistencia semilíquida, es probable que en él existan espacios ó vacuolas llenas de un material líquido, pues Flemming ha observado el movimiento browniano en las gotitas de grasa de la célula cartilaginosa viva, fenómeno que sólo puede realizarse con las partículas sólidas que nadan en los líquidos.

Representa el enquilema el pábulo nutritivo de elementos anatómicos, y en él se contienen disueltas, tanto las materias orgánicas consagradas á la asimilación celular, como las destinadas á la eliminación. Parécenos muy verosímil que dicha materia, especie de san-

gre del corpúsculo viviente, esté sujeta á un flujo y reflujo continuado, es decir, á una verdadera circulación determinada por las contracciones del *reticulum*. La observación de las corrientes de granulaciones que se observan en ciertas células vegetales, y el singular fenómeno de las vacuolas pulsátiles, demostrado en algunas plantas inferiores como las *desmidieas, palmelaceas,* etc., podrían explicarse de esta suerte.

c.—*Inclusiones*. Son los corpúsculos inertes, de dimensiones varias, de forma generalmente esférica, de composición química diversa, alojados en el enquilema celular.

No todas las células contienen inclusiones. Es dudoso que existan en los corpúsculos jóvenes y embrionarios. En cambio se las halla en grandes cantidades en las células adultas y diferenciadas, donde alcanzan á veces tal abundancia, que impiden la visión del núcleo y del retículo.

Deben distinguirse dos clases de inclusiones: unas debidas á la actividad química de la célula, es decir, de origen interior; otras que vienen de fuera y son llevadas al protoplasma por los líquidos nutritivos.

A la primera especie pertenecen los gránulos grasientos de las células hepáticas, cartilaginosas, adiposas, vitelinas; las partículas de fermentos de los elementos pépsicos, salivales, etc., y las de almidón, aleurona, grasas, etc., de los protoplasmas vegetales. Todas estas substancias son elementos de reserva elaborados por la célula para subvenir á futuras necesidades. Son notables en tal concepto, las inclusiones del óvulo de los vertebrados, destinadas á la alimentación de las primeras esferas de segmentación, y las que en gran cantidad encierran las células de las semillas y tubérculos de las plantas para ocurrir á las necesidades de la germinación y desarrollo.

La segunda especie de inclusiones ó sean las de origen exterior, derivan del medio ambiente, y, si en muchos casos pueden servir de pábulo vital para la célula, son con mayor frecuencia ocasión de enfermedades y de muerte. Ejemplo: el leucocito y las células embrionarias que contienen á veces pedazos de hematíes y aun trozos de carbón y de carmín; los amibos que engullen toda suerte de cuerpos extraños, sean ó no digestibles; la célula epitelial de la boca que puede encerrar trozos de un micrófito, el *leptotrix bucalis;* las

células cartilaginosas que, como consecuencia de ciertas alteraciones químicas de la sangre, alojan uratos de sosa, carbonato de cal, etc.

Corpúsculo polar. En estos últimos años, los trabajos emprendidos para esclarecer el mecanismo de la maturación y segmentación del óvulo han permitido hallar un nuevo órgano del protoplasma. Se trata de un menudo corpúsculo (de 0,2 á 1 μ), designado *corpúsculo polar* por van Beneden (1) y *centrosoma* por Boberi (2), caracterizado por su gran refringencia, homogeneidad y forma esférica y su escasa atracción por los colorantes del núcleo. En el óvulo del *ascaris megalocéfala,* donde ha sido particularmente estudiado, yace cerca del núcleo, á menudo en contacto con la membrana nuclear, y alcanza un tamaño relativamente considerable.

Alrededor del centrosoma ó corpúsculo polar aparece una masa protoplasmática más pálida, finamente granulosa y vagamente limitada del resto del cuerpo celular. Este limbo más pálido y granuloso ha recibido el nombre de *esfera atractiva* (Beneden y Strasburger).

El corpúsculo polar y esfera atractiva, hallados primeramente en el óvulo, en curso ó en preparación para la kariokinesis, se han observado también en muchas otras células. Rabl los ha visto en las células del tritón, y Flemming ha demostrado su presencia en los corpúsculos conjuntivos, endoteliales y leucocitos de los urodelos. En las células conectivas y endoteliales, el centrosoma es á menudo doble, y aparece tan diminuto que se le confunde fácilmente con una granulación protoplasmática cualquiera. En los corpúsculos en descanso yace cerca del núcleo, pero no en contacto con la membrana.

De lo expuesto se infiere que, verosímilmente, todo protoplasma, ya en período de descanso, ya en vía de proliferación, contiene un órgano especial que, como más adelante veremos, da la señal del movimiento kariokinético, experimentando importantes modificaciones.

Núcleo accesorio.—Hace ya mucho tiempo que La Valette de

(1) *E. van Beneden.—Archives de Biologie.* Tomo IV, y E. van Beneden et A. Neyt. *Bulletin de l'Acad. royale de Belgique.* III serie, XIV. 1887.

(2) *Boberi.—Jeanaische Jeitschrift f. Naturvissenschaft.* Band. XXI-XXII. Jena.

S. George descubrió en las células semino-formadoras del testículo un gránulo homogéneo, esférico, mucho más pequeño que el núcleo, y fácilmente colorable por los reactivos de la cromatina. Posteriormente, otros observadores, Davidoff por ejemplo, han descrito dichos corpúsculos, llamados núcleos accesorios, en las células del epitelio intestinal y de las glándulas. Pero probablemente, como hace notar Nicolás, se trata en este último caso, no de núcleos verdaderos sino de productos de secreción acumulados en el protoplasma. Es verosímil también que algunos de estos granos deriven de leucocitos emigrantes que habrían penetrado en el interior de las células y sufrido en ellas una semidigestión, análogamente á las transformaciones que en los tumores y tejido de granulación de las heridas experimentan los núcleos de glóbulos blancos intracelulares (Nikiforow, Ballance).

En suma, el núcleo accesorio, cuya significación se ignora, es un órgano positivo de las células testiculares (semino-formadoras ó células piriformes); pero no existe ó no ha logrado demostrarse fehacientemente en los demás elementos.

Historia de la estructura protoplasmática.—El primero que generalizó la textura fibrilar, hallada por algunos histólogos en ciertas células gigantes de los animales, fué Fromman (1865 y 1867). Los trabajos de Fromman aparecieron en su *Zur Lehre von der Structur der Zellen. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. B. 9.* Pensaba el citado histólogo que el protoplasma está construído esencialmente por cordones que, partiendo del núcleo, se dirigen á la periferia, anastomosando entre sí y con las granulaciones celulares.

Heitzmann (1873) *(Untersuchungen über das Protoplasma. Sitzungsber. der Kais. Acca. d. Wiss., Wien., math. nat. B. 67),* observó los hilos en el amebo, leucocitos del cangrejo, tritón, etc. Según este autor, los filamentos del protoplasma forman red, cuyos nudos dan lugar á las granulaciones. Una parte más espesa de la red forma el núcleo, y otra todavía más gruesa de la nuclear constituye el nucleolo; por manera que la célula con todos sus factores no es más que un retículo contínuo, formado de una misma substancia. A esta parte reticulada del elemento orgánico llamó Heitzmann *protoplasma,* atribuyéndole todas las propiedades vitales de la célula, propiedades que excluía de la materia líquida interfibrilar. Semejante concepción es á todas luces esquemática y se funda en observaciones imperfectas.

Kupffer describió también (1874) textura filamentosa en las células he-

páticas de la rana, cuyos hilos, según este autor, convergen en gran parte á los capilares biliares. Véase su obra: *Die Stammverwandtschaft zwischen Ascidien u. Wirbelthieren. A. für. mik. Anat. B. 6.*

Flemming (1878, 1880, 1882) demostró la disposición filamentosa en las células cartilaginosas de la salamandra, en las epiteliales, etc., generalizando esta textura á todos ó los más de los protoplasmas. Niega este histólogo la reticulación de los hilos, estimándolos como independientes, y rechaza la existencia de granulaciones del protoplasma, que en su sentir son fibras vistas de punta. Véanse sus publicaciones: *Beiträge zur Kenntniss der Zellen und ihrer Lebenserscheinungen. Archiv f. mik. Anat. (1878 á 80),* y, sobre todo, su reciente obra: *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung* (1882).

Klein (1879) demostró la existencia del *reticulum* en las células cilíndricas del intestino, las pestañosas, glandulares, etc. Klein entiende la extructura del protoplasma como Heitmann, solo que niega las granulaciones ó nudos de la red, descritos por este autor. Igualmente que Flemming, las interpreta como apariencias debidas á la visión de las fibras en sección óptica. Por lo demás, admite también dos redes de igual naturaleza, una dentro del núcleo *(intranuclear network),* y otra en el protoplasma *(extranuclear network),* ambas en continuidad á través de ciertas perforaciones que ofrece la membrana nuclear. Véanse su memoria: *Observations on the Structure of cells and nuclei. Quart. jour. of micr. Science. vol. 18,* y su *Atlas of Histology* (1881).

Rauber ha confirmado también la textura fibrilar (1881), añadiendo de su cosecha una aserción no confirmada sino en corto número de células, y es que el *reticulum* tiene en todas pactes una disposición radiada y concéntrica. Véase: *Thier u. Pflanze. Akademische Programm.*

Stricker, Spina, Freud, Carnoy, etc., (1884) han comprobado también la disposición fibrilar del protoplasma, añadiendo algunos detalles importantes.

Según Renaut, muchas células, particularmente las del epidermis de la piel, ofrecerían dos zonas protoplásmicas concéntricas: una externa, consistente y continuada con las espansiones intercelulares *(exoplasma);* otra interior más delgada, sumamente transparente, completamente homogénea, que rodea el núcleo formándole una atmósfera brillante *(endoplasma).* El *exoplasma* sería susceptible de diferenciarse en fibrillas, mientras que el *endoplasma* permanecería indiferente. (Renaut: *Traité d'histologie pratique,* 1889.) Esta concepción, defendida también por Haekel, no nos parece aceptable para el cuerpo de Malpigio, donde, si alguna vez aparece una zona clara perinuclear libre de fibrillas, el fenómeno se debería á la retracción nuclear ocasionada por los reactivos.

En opinión de Brass, el protoplasma contendría diversos estratos, anatómicamente y dinámicamente distintos, á saber: 1, plasma motor (la capa más periférica del cuerpo celular); 2, plasma respiratorio (la zona subsiguiente);

3, plasma nutritivo (la capa más concéntrica); 4, plasma de nutrición perinuclear. *(Biologischen Studien.* Organisation d. Thier. Zelle. Halle. 1883.)

La testura fibrilar del protoplasma, innegable para muchas células, ha sido controvertida modernamente por Butschli. Este histólogo prefiere suponer en el cuerpo protoplásmico una construcción esponjosa, como de colmena. El armazón constaría de multitud de vesículas sólidas cerradas y contínuas entre sí por soldadura de sus paredes, cuyos huecos sumamente diminutos estarían ocupados por gotitas de líquido. Semejante hipótesis, así como la recientemente expuesta por Nausen, relativamente á las células nerviosas, que imagina compuestas de tubitos finísimos llenos de líquido, pugnan contra los datos bien positivos de la presencia de fibrillas aisladas en muchos protoplasmas (células del cuerpo de Malpigio, cilindros-ejes en sus puntos de ramificación, etc.)

La existencia en el protoplasma del corpúsculo polar, fué revelada por van Beneden, y confirmada por Boberi, Flemming, Rabl, Zacharias, etc.

CAPÍTULO IV.

CONTINUACIÓN DE LA EXTRUCTURA CELULAR.—NÚCLEO.

Es un corpúsculo ordinariamente esférico, limitado por una membrana que contiene en su interior un armazón dotado de propiedades químicas especiales, y una materia interfibrilar semilíquida.

1—**Existencia.** El núcleo se halla en todas las células de los animales y vegetales. Falta solamente en los microbios, donde la ausencia quizás sea más aparente que real. Como hemos expuesto más atrás, los recientes trabajos de Ernst, Babes, Butschli, Nils-Sjobring, han probado la existencia de formas semejantes á núcleos en algunos microbios de gran tamaño.

Hay elementos que muestran el núcleo con gran corrección, aun en estado de vida, como las células pavimentosas de la boca, las cartilaginosas, las conjuntivas, las melánicas, etc.; pero en otras no puede descubrirse sin el concurso de los reactivos colorantes ó aclarantes: tal sucede con las células corneales, los leucocitos, fibras cristalinas, células epidérmicas córneas, etc. Los reactivos que poseen el privilegio de revelar los núcleos, aun en los protoplasmas más sobrecargados de inclusiones y de enquilema, son los ácidos (el acético, clorhídrico, oxálico) y las materias colorantes de la cromatina nuclear, como el carmín, hematoxilina, verde metileno, etc.

La ausencia de núcleo bien comprobada, anuncia la muerte de la célula. El hematíe que no lo contiene, se considera como un elemento caduco. Estímanse también, por igual motivo, como células muertas, los corpúsculos más keratimizados de la vaina de la raíz del pelo y del epidermis cutáneo.

2—**Volumen.** En general, puede afirmarse que el diámetro de los núcleos oscila entre 5 y 12 milésimas. Los más pequeños son los de las células óseas que miden 6 μ, y los núcleos de los corpúsculos linfáticos, cuya estatura no pasa ordinariamente de 5 μ. Alcanzan mayor tamaño los núcleos de las células conectivas, epitelia-

les y cartilaginosas. El de estas últimas, que puede servir de tipo de núcleos medianos, tiene generalmente 9 μ. En general, las células, cuya estatura es grande, poseen también núcleo de gran talla: así, el de las células nerviosas motrices de la médula pasa de 20 milésimas, y de 15 el de las nerviosas ganglionares. Pero estas tallas son nada en comparación con las estaturas nucleares de las células de ciertos animales inferiores. Los núcleos de las células intestinales del *Oniscus asellus* y del *Armadillo asellus,* llegan á 60 μ. Las células intestinales de las larvas de articulados, particularmente de los muscidos, pasan muchas veces de 70 μ. Parecido tamaño poseen los núcleos del óvulo de la araña doméstica, los del *Carabus* y del *Asellus,* etcétera. Entre las plantas, los núcleos del endospermo de la *Paris quadrifolia,* del *Lilium candidum* y *tigrinum,* de la *Fritilaria persica* son notables igualmente por su magnitud, que oscila entre 20 y 55 μ. Pero los núcleos verdaderamente colosales son los de las células de la glándula genital larvar de la *Masicera velox* (díptero) que, según las mensuraciones de Carnoy, llegan á 450 milésimas; y el de unos radiolarios, el *Thalassicolla nucleata* y el *pelagica* que, según Hertwig, puede alcanzar á 500 milésimas, ó sea medio milímetro de longitud.

3—**Forma.** Es esferoidal en la mayor parte de las células, particularmente en las poco diferenciadas. Los corpúsculos de las uñas y células superficiales de los epitelios pavimentosos lo ofrecen aplastado á la manera de una lente; las células alargadas, como la fibra muscular lisa y estriada, las cilíndricas epiteliales, etc., lo muestran estirado, particularmente la fibrocélula, en donde adquiere la forma de un bastoncito. Una forma menos frecuente, pero muy notable, es la ramificada ó vegetante, peculiar de los núcleos de las glándulas hileras de los lepidópteros y de los que encierran las mieloplaxias del conejo (fig. 32). No es menos curiosa la que ostentan los núcleos de los leucocitos y glóbulos purulentos. Entre las diversas formas adoptadas por estos núcleos se encuentran la reniforme, la en reloj de arena, la semilunar, la de bizcocho, la moniliforme, etc.

No cabe duda que las presiones y condiciones mecánicas exteriores deben influir en la conformación de los núcleos; y así se explicarán los alargados de las fibrocélulas, los discoides de las uñas; pero, en general, estas causas, de gran eficacia en el modelamiento

de la célula, tienen poca influencia sobre el núcleo, pues le vemos frecuentemente conservar su forma esférica originaria en protoplasmas profundamente deformados, ó adquirir extrañas disposiciones (durante la kariokinesis) con absoluta independencia de la forma celular.

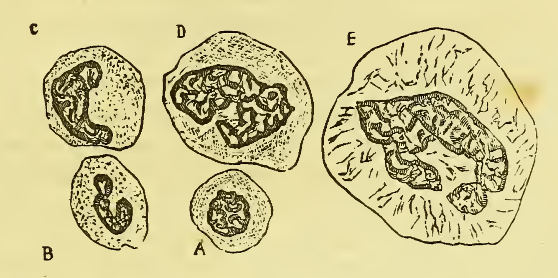


Fig. 32.—Elementos de la médula ósea del conejillo de Indias tratados en fresco por el verde de metilo ácido; A y B, meduloceles, el uno con núcleo esférico formado de un armazón denso, y el otro con vegetaciones incipientes; C, D, E, mieloplaxias en diversas fases de crecimiento, con núcleo vegetante que muestra claramente la cromatina reticulada envuelta en una membrana nuclear cromática.

4.—**Estructura del núcleo.** El núcleo se compone ordinariamente de cuatro partes: el armazón fibrilar, la substancia ó jugo interfibrilar, el núcleo y la membrana.

A. **Armazón filamentoso.** Fórmanlo por lo común dos especies de cordones: unos gruesos, constituídos en gran parte de una materia ávida de los reactivos colorantes, y á quien, por esta razón, se ha designado con el nombre de *cromatina;* y otros más delgados y difícilmente visibles, que permanecen incoloros en presencia de los reactivos. Los primeros, se han llamado por Rabl filamentos primarios, los segundos filamentos secundarios. Ambas especies de hilos se continúan entre sí formando una red más ó menos complicada.

1—**Filamento cromático** (1).—Constituye este filamento la parte verdaderamente característica del núcleo, tanto bajo el punto de vista químico como morfológico.

Químicamente se caracteriza por estar construído en gran parte

(1) El nombre de *filamento cromático* ó de *cromátina nuclear* se debe á Flemming. Este autor emplea también muchas veces la espresión *Kerngerüst.* Carnoy usa la voz *boyau nuclear* ó *filamento de nucleiua,* Klein la designación *intranuclear network* y Balbiani la de *filaments nucleaires.*

de una materia hace tiempo conocida, la nucleina de Miescher, substancia soluble en los álcalis é insoluble en los ácidos débiles, poco ó nada digestible, y dotada, sobre todo, de una apetencia notabilísima por ciertos reactivos colorantes. El carmín, la hematoxilina, el violeta de dalia, el verde de metilo, la zafranina, son los que más selectivamente la tiñen, constituyéndose por tal motivo en sus agentes reveladores.

Cuando con medianos aumentos y en preparaciones vivas, se examina un núcleo de mediano tamaño, por ejemplo, el de una célula cartilaginosa ó epitelial de la rana, apenas acertaremos á ver otra cosa que la cubierta nuclear revelada por un doble contorno, y un contenido fuertemente granuloso, donde nada distinto se percibe; en ocasiones, en medio de esas granulaciones se distingue un corpúsculo algo más grueso, que es el nucleolo. Cualquiera que sea el aumento empleado, no llegaremos á ver nada más, porque durante la vida son iguales ó poco menos los índices de refracción del plasma nuclear y del armazón filamentoso. Pero si sobre los elementos del tejido, fresco aún, dejamos caer una gota de verde metileno acetificado, la escena cambia súbitamente; el núcleo se tiñe intensamente de un matiz verde azulado, y en medio de aquella masa, antes granugienta y caótica, se ve surgir con sorpresa un armazón de fibras fuertemente coloradas, destacando correctamente sobre una materia intersticial, casi absolutamente incolora.

Se advierte ahora, que la mayor parte de las granulaciones grisáceas del núcleo, no son corpúsculos sueltos, sino recodos de los filamentos cromáticos ó secciones ópticas de éstos. Si, en lugar del verde metileno, hubiéramos usado el violeta de dalia, el efecto hubiera sido casi igual, solo que la materia interfibrilar aparecería de un matiz ligeramente violeta, menos intenso siempre que el adquirido por el armazón. El violeta de anilina produce parecidos resultados, como también el violeta de metilo, la zafranina, la vesubina y la hematoxilina, el carmín aluminoso y la cochinilla de Czokor. Con todo, estos últimos reactivos, especialmente la vesubina y hematoxilina, colorean casi con la misma intensidad el armazón cromático que el jugo nuclear, por lo cual no son tan beneficiosos como los primeros para el estudio del núcleo. También el ácido acético diluido obra semejantemente, es decir, haciendo resaltar el filamento

cromático, sin duda porque rebaja el índice de refracción del jugo nuclear. Los buenos efectos obtenidos por el verde metileno y violeta de dalia en la coloración del glomérulo, son debidos en gran parte al ácido acético que se les agrega, pues cuando se les emplea sin éste, carecen de selección por la cromatina. A nuestro juicio, el ácido acético de estas soluciones actúa dando gran permeabilidad al protoplasma, y franqueando, por consecuencia, la puerta á las materias colorantes del núcleo (véase en la técnica el ácido acético).

Cuando, en vez de materias colorantes ácidas, se aplican las alcalinas ó neutras (picro-carminato amoniacal, por ejemplo), el núcleo se nos presenta teñido de un color rojo uniforme ligeramente granuloso, donde no se descubre el menor vestigio de cromatina. Es que el carmín tiene la misma afinidad (á veces menor) por la cromatina que por el jugo del núcleo. Al empleo tan general del picrocarminato, es debido el que haya tardado tanto en descubrirse la estructura nuclear. Aún es menos eficaz el carmín amoniacal, pues hincha la cromatina y hasta llega á disolverla en parte.

En la demostración del armazón, es preciso evitar todos los agentes disolventes de la nucleína, el ácido clorhídrico puro, la potasa, el amoniaco, las sales alcalinas, como el cianuro de potasa y carbonato de idem, el cloruro de sodio al 10 por 100, etc.

Los fijadores ácidos (crómico, ósmico) son convenientes; pero el bicromato de potasa es detestable porque altera profundamente los filamentos cromáticos. El agua misma no es inofensiva tampoco; á la larga hincha los hilos dándoles una palidez extraordinaria. Por último, las piezas induradas en el alcohol no muestran bien el armazón, por razón de las coagulaciones que este agente determina en la savia nuclear. De aquí la necesidad de estudiar siempre el núcleo fresco, ó fijado por las soluciones diluídas de ácido crómico (1 por 100), por el líquido de Flemming, bicloruro de mercurio, etc.

Pero ¿es normal la presencia del filamento cromático? ¿No será acaso resultado de artificios de preparación, de coagulaciones, como asegura Henle? Aun tratándose de una disposición estructural real y demostrada, ¿puede generalizarse su existencia á todos los núcleos vivos?

Que dicho filamento es un hecho de organización normal del

núcleo lo muestra la circunstancia de haber sido observado en las células vivas, por ejemplo: en las testiculares de la *Tegenaria doméstica,* en los núcleos del *Asellus,* en las células cartilaginosas frescas, etc. Que se trata de una disposición típica común á todos los núcleos vivos lo prueba el infinito número de especies animales y vegetales en cuyos tejidos ha sido demostrada.

Como era natural, comenzóse por observar esta estructura en los núcleos gigantes de los epitelios de la salamandra y del tritón, en los de las larvas de articulados, en las células testiculares de los crustáceos, moluscos, batrácios y mamíferos, y en los que encierran el polen y el endospermo, etc. de las *liliáceas;* y obtenida plena certidumbre de su existencia en estos núcleos gigantes, se la ha aprendido á ver en los más exiguos de los mamíferos, echando mano de poderosos objetivos de inmersión.

Podemos, pues, aventurarnos á considerar la existencia del armazón cromático como una propiedad estructural común á todos ó la inmensa mayoría de los núcleos vivientes.

Por último, los núcleos hondamente transformados de ciertas células muertas carecen de filamentos cromáticos; en este caso se hallan los núcleos de los pelos, uñas, epidermis córneo, células pavimentosas superficiales de la boca, etc.

b—*Forma del armazón cromático.*—El hilo de nucleina puede adoptar dos formas principales: 1.ª, la de red y 2.ª, la de pedazos irregulares sueltos á guisa de gruesos nucleolos.

1—La forma anastomosada parece ser la más frecuente, observándosela con gran claridad en los núcleos de las células epiteliales conjuntivas, endoteliales, leucocitos, mieloplaxias, condroblastos, células musculares. El óvulo de los equinodermos y aun el de los mamíferos en los primeros tiempos de su formación exhiben también esta disposición.

Examinado el retículo cromático á grandes aumentos, se advierte que constituye mallas irregulares, limitadas por trabéculas de muy diverso espesor. Los puntos nodales de la red son siempre más voluminosos que los hilos, ofreciendo también una coloración mucho más intensa. A menudo, el armazón se muestra como una reunión de granos cromáticos de gran volumen, unidos entre sí por filamentos finos y tan pálidos de color en las preparaciones tratadas por el

carmín, hematoxilina, etc., que se diría estaban constituídos de una substancia diferente de la que forma las nudosidades.

En ocasiones, la red cromática es tan fina, aun en núcleos relativamente voluminosos, que no es posible discernir otra cosa que una masa cromática finamente granulada. Esto acontece, sobre todo, en células muy alejadas de su período de segmentación kariokinética.

2—La forma *fragmentada,* es decir, en bastoncitos, esferas, granulaciones independientes fué ya afirmada por Schmidt y Strasburger; niégala Flemming, que sostiene que todo gránulo cromático del núcleo debe referirse á una trabécula de la red, vista de punta ó en sección óptica. No es posible rechazar la existencia de la nucleina fragmentada. Carnoy la ha demostrado en los óvulos de los peces y de los insectos, en donde forma la llamada mancha ó manchas germinativas. Nosotros la hemos comprobado muchas veces en las células epiteliales normales y patológicas. En el cuerpo de Malpigio, por ejemplo, los núcleos más profundos muestran un armazón cromático; pero, á medida que los núcleos ocupan estrato más superficial, la nucleina se fragmenta y reabsorbe, tanto que en las capas superficiales córneas, la cromatina ha desaparecido ó quedado reducida á simple vestigio.

Parecido fenómeno tiene lugar en las células glandulares, en las epiteliales mucosas de los mamíferos y en las células de las glándulas hileras de larvas de lepidópteros, durante el período de su reabsorción. Así que, en general, la fragmentación de la nucleina se estima como un fenómeno de desorganización ó degradación celular, anuncio de próxima muerte. Sin embargo, no hay que olvidar que el óvulo presenta en este estado su nucleina, y, siquiera tal disposición sea de carácter transitorio, aquí, al menos, no puede atribuirse á la disminución de las propiedades vitales.

Por último, el estado amorfo de la nucleina, es demostrable en las células nerviosas, en los hematíes ancianos de la rana, y sobre todo en la cabeza de los zoospermos.

c—*Extructura del armazón.* Parecía que el análisis anatómico del núcleo debía encontrar un límite infranqueable en el glomérulo, y sin embargo, no ha sido así; apenas descubierto y estudiado háblase ya de nuevas y más delicadas texturas.

En muchos núcleos de los invertebrados, particularmente de los insectos, en vez de armazón reticulado, la cromatina se presenta, como han demostrado Balbiani y Carnoy, en filamento contínuo de gran espesor. En estos espesos filamentos, por ejemplo en los de las glándulas hileras de los nemoceros, en los de las glándulas salivales del Chironomus (Balbiani), en las del estómago chupador de las larvas de muscido (Cajal), puede notarse todavía una disposición estriada, alternando partes claras incolorables por el verde de metileno con otras obscuras que adquieren una tinta muy intensa.

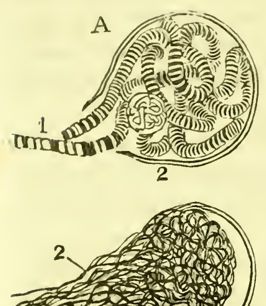


Fig. 36.—Dos núcleos donde el filamento cromático, disociado por las agujas, demuestra su continuidad.—A, núcleo del estómago chupador de una larva de muscido; se ven en 1, cordones estirados y rotos con estrías de nucleína que alternan con otras pálidas, y en 2, la membrana nuclear claramente perceptible. Este núcleo ha sido tratado por ácido acético diluído, en cuyo reactivo ha permanecido 24 horas.—B, núcleo disociado de una célula epitelial del armadillo, donde las fibras cromáticas, aparentemente anastomosadas antes de la disociación, dejan ver su independencia en la parte estirada.

Para Carnoy el cordón nuclear posee todavía mayor complejidad. Según este citólogo, es un verdadero tubo construído de nucleína, con una luz ó cavidad central llena de plasma, y un estuche periférico, acromático, formado de un producto albuminoide análogo á la plastina. En las formas estriadas la capa de cromatina ó nucleína alterna con otra de una substancia albuminoide incolorable; por manera que el glomérulo estriado se forma una cubierta exterior de plastina, y de anillos superpuestos de materia cromática y acromática. Este mismo disco cromático puede estar construído de gran número de diminutas esferas de nucleína englobadas en un material sólido y transparente sin afinidad por el verde de metilo.

Nuestras observaciones no son suficientes para que podamos emitir un juicio concreto sobre este particular (1).

Opinión de Rabl sobre la estructura nuclear (2). Según este autor,

(1) Véase la obra ya citada de Carnoy: *Biologie cellulaire*, págs. 232 y 233.

(2) *Rabl.:* Ueber Zelltheilung. *Anat. Anzeiger*. 1889.

el armazón cromático no estaría dispuesto en el núcleo en descanso de un modo irregular, sino que las trabéculas presentarían una cierta orientación. Distingue desde luego Rabl las trabéculas en primarias y secundarias: las *primarias,* relativamente gruesas, tíñense bien por los reactivos de la cromatina, y se disponen en horquillas cuyos codos convergen todos en torno de un espacio libre de filamentos que llama *campo polar*. En el espacio opuesto al campo polar *(contrapolo* de Rabl), las extremidades de los filamentos en horquilla se entrecruzan sin anastomosarse; de suerte que de los dos polos nucleares, el uno se halla libre de fibras y el otro las tiene más abundantes. Todas estas horquillas, formadas como hemos dicho de hilos primarios ó gruesos, están reunidas entre sí, por una trama de hilos pálidos, sin orientación precisa, que se llaman *filamentos* secundarios. La presencia de estos trabéculos y las flexuosidades de los hilos primarios disimulan generalmente, en la mayor parte de los núcleos, esta disposición orientada, la cual sirve á Rabl para explicar sin esfuerzo, como más adelante expondremos, el proceso kariokinético. El nucleolo verdadero no tendría relaciones de continuidad con el retículo. Por fuera del núcleo y correspondiendo al campo polar residiría el centrosoma.



Fig. 37.—Núcleo en descanso visto por el campo polar. P. Campo polar; N. nucleolo. (Copia de Rabl.)

La permanencia de los polos y la conservación de una cierta orientación bipolar de los hilos cromáticos del núcleo en reposo, ha sido confirmada por Carnoy en los núcleos de los artropodos, sólo que aquí no hay contrapolo ni filamentos secundarios.

Van Gehuchten (1890) ha comprobado esta disposición en los núcleos de las glándulas de un *nemocero,* concluyendo de sus pesquisas que en los núcleos en descanso hay dos espacios superficiales y opuestos, libres de filamentos cromáticos. La línea que une estos espacios ó polos llámase eje orgánico nuclear (Carnoy, van Gehuchten), y á su nivel se colocará el huso acromático en cuanto comience una nueva kariokinesis. Dicha línea es perpendicular al eje de figura, pues comunmente los núcleos son elipsoideos.

Nucleolos.—Llámanse así unos corpúsculos de gran refringen-

cia, de naturaleza protéica, que encierra frecuentemente el núcleo de las células adultas.

Divídense los nucleolos en aparentes y reales.

a.—*Nucleolos aparentes.* Los núcleos de las células cartilaginosas, conjuntivas, epiteliales, etc., de los mamíferos, albergan ciertos gránulos, de forma redondeada ó irregular, unas veces unidos al armazón, del que son verdaderas excrecencias, otras independientes de él. Estos corpúsculos, erróneamente considerados como nucleolos, deben estimarse como dependencias del armazón cromático, puesto que se comportan bajo la acción de los reactivos de idéntica manera que la nucleina.

Aparentan ser también nucleolos los recodos de los filamentos cromáticos de los leucocitos, hematíes nucleados, células conectivas, etc., así como la cromatina en esferas de algunos óvulos (manchas germinativas), los glomérulos centrales y retraídos de las larvas de insectos, y todas las inclusiones nucleares algo gruesas.

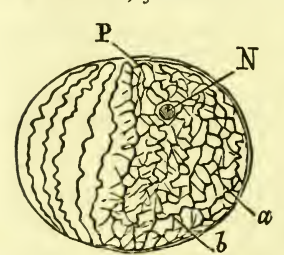


Fig. 38.—El mismo núcleo visto ecuatorialmente; P. campo polar; N. nucleolo; *a*, filamentos finos secundarios; *b*, filamentos recios ó primarios. (Copia de Rabl.)

b—*Nucleolos verdaderos.* Son los que responden á la definición de Valentín: «un corpúsculo á la manera de un pequeño núcleo dentro del núcleo;» y pues el núcleo representa un elemento distinto, morfológica y químicamente, del protoplasma, el nucleolo ha de ser cosa parecida respecto del núcleo.

Estos nucleolos, de especiales propiedades químicas, son más raros que los aparentes, pero se los encuentra en muchas células de gran estatura, siendo de notar que sólo los contienen elementos adultos, nunca los jóvenes y embrionarios (véase la fig. 38).

Caracterízanse los nucleolos verdaderos:

1.° *Por su refringencia.* Cuando se observan en el agua los óvulos de la *Tegenaria doméstica,* las células intestinales del *armadillo,* las del estómago chupador de larvas de dípteros, etc., llama la atención la extrema corrección con que aparece el nucleolo, cuyo contorno destaca vigorosamente en medio de la masa nuclear completamente incolora.

En las preparaciones no teñidas y conservadas en el bálsamo todo desaparece; armazón cromático, red de plastina, granulaciones, excepto el nucleolo, cuyo índice, como Flemming ha hecho notar, es superior al del bálsamo.

2.° *Por sus propiedades químicas.* La materia de que están construídos los nucleolos verdaderos, no es la nucleina, puesto que carece de las propiedades de ésta. Ni el agua la hincha, ni los álcalis la disuelven, ni los ácidos le dan mayor resalte, ni el cloruro sódico la destruye. Esta materia ha sido recientemente estudiada por Schwarz, quien le da el nombre de *pirenina (procromatina* de Pfitzner).

Al revés del armazón cromático, que casi siempre exige la aplicación de agentes tintóreos que lo revelen, el nucleolo puede estudiarse muy bien en el estado fresco. Es más; en general, la influencia de los reactivos es perjudicial para el examen del nucleolo, atendido á que casi todos lo alteran y palidecen; solamente el agua conserva fielmente su disposición, prestándole un contorno vigoroso y evidenciando su estructura íntima.

3.° *Por sus afinidades colorantes.* El nucleolo no se tiñe por el verde metileno ácido, ni apenas por el violeta de dalia; en cambio lo tiñen intensamente el carmín y la zafranina. Repugna en general las materias colorantes ácidas, y gusta de las neutras y alcalinas. La afinidad que posee por el carmín y zafranina es muy superior á la que el armazón de cromatina tiene para con estas substancias. Así, si se trata un núcleo de tubo malpigiano de larva por el verde metileno y después por la zafranina, se obtiene una hermosa coloración doble: el nucleolo destaca de color rojo y el glomérulo de un matiz verdoso casi puro.

En resumen: el nucleolo está compuesto especialmente de una materia de naturaleza particular, bastante semejante á la *eleidina* de Ranvier por su modo de comportarse con los agentes tintóreos, y que podría llamarse, á fin de distinguirla de la nucleína, *nucleolina,* ó materia del nucleolo.

c.—*Existencia y número de los nucleolos verdaderos.* Hemos expuesto ya que los nucleolos verdaderos son raros. Las células endoteliales, epiteliales, glandulares, conjuntivas, cartilaginosas, medulares del hueso, leucocitos y hematíes nucleados, carecen de él; mas lo contienen el óvulo, y las células nerviosas de los mamíferos

y muchos elementos gigantes de los batrácios, crustáceos é insectos.

Ordinariamente se halla un solo nucleolo; pero no es raro encontrar dos y más, como sucede con los núcleos de las células intestinales del armadillo, etc. Las células que solo contienen un nucleolo llamólas Auerbach *uninucleolares* y *multinucleolares* á las que encierran varios. Este autor llegó á contar en ciertos núcleos hasta 16 nucleolos; pero es preciso recordar que Auerbach escribió en época en que se ignoraba la existencia del armazón nuclear, y tomó, por consecuencia, muchas veces los recodos y abultamientos de éste por verdaderos nucleolos.

d.—*Estructura.* El nucleolo se compone en ciertas especies (huevo de los *moluscos lamellibranquios,* óvulo del conejo, *ascidia intestinalis,* etc.), de dos esferas unidas; una grande y pálida que se hincha en los ácidos; y otra pequeña más refringente y susceptible de teñirse por el carmín, hematoxilina, etc. Pero esta disposición es excepcional, lo mismo que la descrita por Balbiani en las glándulas salivales de la larva del *Chironomus,* donde los nucleolos se hallan insertos á las extremidades del filamento nuclear.

En general, el nucleolo es un corpúsculo diáfano, independiente, es decir, no continuado con el glomérulo, y limitado por ténue membrana acusada muchas veces por un doble contorno.

¿Tiene el nucleolo textura más complicada? Preciso es confesar que la mayor parte de los nucleolos, sin duda por la exigüidad de su tamaño, no dejan advertir otra cosa que un estado granuloso indeciso: mas si echamos mano de los nucleolos de gran talla de las larvas (estómago chupador de los dípteros) y hacemos el examen en el agua (el mejor reactivo para el nucleolo), no tardaremos en percibir una disposición filamentosa, bastante acentuada, que en ocasiones semeja un hilo replegado sobre sí mismo.

3.—**Jugo nuclear.** Es una materia semilíquida, transparente en los núcleos vivos, algo granulosa en los conservados en alcohol, ácido crómico, etc., la cual ocupa todo el espacio limitado por la membrana nuclear, llenando las mallas de los armazones cromático y acromático.

Aunque, en general, el jugo nuclear es poco afine de las materias colorantes, y en esta cualidad se fundan, como hemos visto, los

mejores procederes de demostración del glomérulo, hay agentes que la tiñen moderadamente, como el violeta de dalia, zafranina, carmín, hematoxilina, materias que apenas colorean el enquilema del protoplasma. El carmín, en muchos casos, tiñe mucho mejor el jugo nuclear que el mismo glomérulo, el cual se hace visible precisamente por su falta de coloración. El verde de metilo repugna el citado jugo, y sólo llega á teñirlo algo cuando se emplean soluciones muy concentradas. El violeta de dalia ó de genciana lo impregna de un violeta rosáceo pálido, mientras que proporcionan al glomérulo un tono violeta azulado muy obscuro. Se ignora la naturaleza química de la savia nuclear; bien que se la supone análoga á la protoplasmática, de la cual, sin embargo, deben separarla algunas diferencias químicas, pues posee afinidades colorantes de las que ésta no participa (1).

4.—**Membrana nuclear.** Dos cubiertas se han descrito en el núcleo: una que rara vez falta (membrana *acromática);* y otra sólo visible en algunos elementos (cubierta *cromática)*.

a.—*Cubierta acromática.* Hállase el núcleo separado del protoplasma por una capa transparente, hialina, muy resistente á la acción de los reactivos, sin afinidad por las materias colorantes, y la cual se da á conocer, sobre todo en los núcleos gruesos, por un doble contorno muy claro.

Participa la membrana de las mismas propiedades químicas del *reticulum* protoplasmático, y es verosímil esté construída como éste de plastina ú otro producto análogo. Es insoluble en agua, éter y alcohol, en ácido hidro-clórico diluído al 3 por 1000, en cloruro sódico, en las bases y ácidos fuertes y en el licor artificial digestivo.

La membrana nuclear existe en casi todas las células, y su percepción correcta es muy fácil con tal que concurran las tres circunstancias siguientes: 1.ª, núcleo grueso y viejo (los núcleos antiguos poseen muy gruesa membrana); 2.ª, diafanidad del protoplasma en-

(1) Para explicar estas afinidades ha supuesto Flemming, que el líquido nuclear contiene cierta cantidad de cromatina en disolución, análoga á la que constituye esencialmente el armazón cromático. Pero como la citada savia no se tiñe por el verde metileno, y sí por el carmín, al revés de lo que sucede con el glomérulo, cabe dudar de la legitimidad de esta interpretación.

volvente; 3.ª, armazón cromático, escaso en filamentos ó poco apretado contra la superficie interna de la cubierta nuclear.

La cubierta no puede demostrarse en los más pequeños núcleos de los mamíferos; y falta quizás en los leucocitos, y, en general, en las células durante su partición *kariokinética.*

La membrana nuclear ha sido negada en absoluto por Fritzner y Retzius, cuyos histólogos la consideran como una simple apariencia ocasionada por la correcta limitación periférica de la red cromática. Pero esta aserción es errónea y absolutamente insostenible para los gruesos núcleos de mamíferos (óvulo, célula nerviosa, célula epitelial) y crustáceos (armadillo, *Oniscus*), donde la membrana aparece clarísimamente bajo la forma de un limbo incoloro, doblemente contorneado. Pero en ningunas células se descubre la cubierta nuclear tan correctamente como en aquellas cuyo armazón cromático por desgarraduras acaecidas durante la disociación, ha sido proyectado fuera de la célula, quedando sola la membrana nuclear.

Aunque, de ordinario, la membrana nuclear está formada por una materia hialina y homogénea, muestra en ocasiones disposición reticulada (Carnoy) y alguna vez perforaciones (Hertwig). Los hilos acromáticos del núcleo parecen continuarse con la membrana, mas no es tan verosímil la fusión de ésta con el *reticulum* protoplasmático (véase pág. 191).

¿La membrana nuclear es una dependencia del núcleo, ó del protoplasma? Strasburger la considera como una condensación del protoplasma exterior, en tanto que Flemming la reputa parte integrante del núcleo y de formación independiente de aquél. Es lo cierto, que la cubierta corre siempre la suerte del núcleo en todas sus transformaciones; durante la segmentación directa se escinde al mismo tiempo que el núcleo, y en la *kariokinética,* desaparece tan pronto como se han iniciado los primeros cambios en la posición de la *cromatina;* lo cual, por lo menos, prueba una cierta subordinación de la membrana al contenido nuclear.

b.—*Cubierta cromática.* Además de la mencionada cubierta incolorable por los agentes tintóreos, parecen ofrecer algunas células otra cutícula especial situada por dentro de la procedente y caracterizada por su afinidad por el verde metileno, dalia, zafranina, etc.,

por cuyas propiedades se la ha designado con el nombre de cubierta cromática del núcleo. Algunos histólogos consideran tal membrana como simple ilusión, que nace de tomar la rigurosa limitación y superposición periférica del armazón cromático, por capa especial y distinta; pero Flemming la acepta en algunos casos, estimándola como resultado de la expansión de las trabéculas de cromatina debajo de la cubierta acromática, las que reuniéndose forman á la manera de un nuevo revestimiento, bien contínuo, bien discontínuo. Esta opinión parécenos la más razonable, pues hemos visto muchas veces en los núcleos de las células epiteliales, conjuntivas, cartilaginosas, mieloplaxias, etc., situada por debajo de la cutícula acromática, otra capa, coloreada fuertemente por el verde metileno, gruesa y refringente, interrumpida en ciertos sitios, pero frecuentemente contínua, de cuya superficie interna surgen filamentos cromáticos, escasos, flexuosos, casi siempre anastomosados y moniliformes. Esta disposición, que es muy fácil de observar, no se presenta según nuestras observaciones en los núcleos que encierran un glomérulo ó filamento contínuo (larvas de insecto).

Historia de la estructura nuclear. Desde los trabajos de Schleiden y Schwann, el núcleo se ha considerado por casi todos los histólogos, aun por los más modernos, Frey, Ranvier y Krause, como una vesícula, limitada por cubierta resistente, que contiene un material viscoso, sembrado de granulaciones, entre las que descuellan algunas más gruesas, colorables por el carmín, que han recibido la designación de nucleolos. Y, sin embargo, ya desde 1860, habíanse descrito cordones dentro del núcleo por varios histólogos (Arnold, Hensen, Frankenhauser, etc.), bien que no llegaron éstos á considerarlos como propiedad estructural constante de los núcleos.

Fué también, Fromann (1867), ilustre descubridor de la textura del protoplasma, el primero que osó generalizar la disposición filamentosa nuclear, que él observó en las células nerviosas de la médula, conectivas y epiteliales. Mas los descubrimientos de este histólogo publicados en sus *Untersuchungen über die normalen, path. Anatomie d. Ruckenmarks,* no llamaron la atención de los sabios anatómicos de la época, como lo prueba el hecho de no ser citados en importantes y posteriores trabajos histológicos.

Kleinenberg (1872), *(Hydra, s Lit.—Verz. 2. Abschn, 1,53.)* confirmó la textura nuclear en el óvulo de la Hidra, interpretándola como un estado accidental del huevo maduro.

Heitzman (1873), en el trabajo ya citado en la historia de la estructura

del protoplasma, se adhirió á las ideas de Fromann, describiendo una red nuclear continuada directamente con la protoplasmática.

En 1874, Auerbach publicó un notable trabajo sobre el núcleo *(Organologische Estudien, Breslau.)*, en el cual dió á conocer con grandes detalles las propiedades de los nucleolos, su número y variabilidad bajo diversas condiciones fisiológicas, pero sin adelantar ni aun confirmar la textura filamentosa por Fromann descubierta.

Flemming (1875), en sus *Studien in der Eutwickelungsgeschichte der Naiadem,* mostró también la existencia de hilos en el huevo de este animal, y Hertwig *(Beiträge sur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung der Thierischen Eies. Morph. Jahrb. B. 1.)*, en los de los equinodermos. Simultáneamente describieron también textura filamentosa, Fromann en los núcleos de los glóbulos sanguíneos del cangrejo, y Schwalbe en las células ganglionares de la retina. Este autor emitió la idea de que el núcleo se compone de dos cosas: savia nuclear y substancia de los nucleolos, la que durante la juventud de las células puede ofrecer aspecto filamentoso, en vez de concretarse en corpúsculos esféricos. Véase su: *Bemerkungen über die Kerne d. Ganglienzellen.*

Flemming (1878), volvió á ocuparse nuevamente de la textura nuclear, estudiándola en los grandes núcleos de la *Salamandra maculata,* llegando á la conclusión que el armazón filamentoso es la expresión de una disposición estructural común á todos los núcleos. *V. su: Zur Kenntniss der Zelle u. ihrer Theilungserscheinungen. Schriften des narturwis. Vereins zu Kiel.*

En otro trabajo ulterior (1879), después de someter el núcleo á toda clase de reactivos, propuso denominar la materia del armazón colorable por los agentes tintóreos *cromatina,* y *acromatina* la no colorable.

Arnold y Schleicher (1879) confirmaron los trabajos de Flemming, y Balbiani (1881) *(Sur la structure du noyan des cellules salivaires chez les larves de Chironomus)*, después de reconocer la estructura filamentosa del núcleo, llamó la atención sobre la forma en *boyau* ó en filamento contínuo que la cromatina de ciertas células ofrece, señalando también por primera vez la estriación transversal de los filamentos.

Retzius (1881) comprobó el armazón filamentoso en los núcleos del tritón, aun fuera de las épocas de segmentación, considerando los nucleolos como continuaciones y dependencias de la red, y aceptando la opinión de que los filamentos poseen textura granular, *Zur Kenntniss vom Bau des Zellkerns, Biolog. Untersuch, Stokholm.*

Strasburger, que negaba la textura nuclear en sus trabajos anteriores, acepta ya que los nucleolos de la *salamandra* ofrecen disposición filamentosa,

en su reciente obra: *Ueber den Theilungsvorg, d. Zellkerns. Archiv für mikros. Anat* (1882).

Zacarías (1883), después de comprobar la existencia de los filamentos nucleares, ha demostrado, á favor de delicadas investigaciones químicas, que la materia de los citados filamentos *(cromatina* de Flemming), no es otra que la *nucleina* de Miescher, resultado á que también ha llegado Carnoy. Véase la memoria de Zacarías titulada: *Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeit. núm. 13. 1883.*

Carnoy (1884), en su *Biologie cellulaire* ha descrito largamente la textura filamentosa del núcleo, considerando, á la manera de Balbiani, el filamento de nucleina como cordón contínuo, y señalando en la savia nuclear una nueva red acromática, análoga á la descrita por los citólogos en el protoplasma.

Finalmente, Rabl *(Anatomischer Anzeiger* 1883) y van Gehuchten *(Anatomischer Anzeiger* 1890), han estudiado de un modo particular la orientación de los filamentos cromáticos del núcleo en descanso, demostrando que la cromatina se dispone en hilos periféricos y que existe un espacio (campo polar) libre de retículum.

CAPÍTULO V.

MEMBRANA CELULAR.

Es la cubierta que rodea al protoplasma y por la cual éste se limita de las materias intercelulares.

Conócense dos especies de cubiertas: 1.ª, membrana aislable é independiente de la célula; 2.ª, capa cortical del cuerpo celular, continuada con el protoplasma y participante de su estructura. La primera es un producto de secreción de la célula, una materia muerta que, semejante á una concha, sirve para proteger la delicada trama protoplasmática de las dañosas influencias del ambiente; y la segunda es una cubierta viva, especie de órgano de relación de la célula, cuyas atribuciones son reglar los cambios físicos y químicos entre el medio intra y extra-celular. Esta disposición recuerda el dermis (parte sensible) y el epidermis (parte protectora) de la piel de los organismos independientes.

1.—**Membrana propiamente dicha ó cubierta independiente.**

a.—*Existencia.* No todas las células la contienen; de ella carecen las conjuntivas, óseas, nerviosas cerebro-raquídeas, hematíes, meduloceles, corpúsculos linfáticos, etc.; pero se la observa claramente en el óvulo, célula cartilaginosa, adiposa, nerviosa ganglionar, fibra muscular y nerviosa.

La membrana se dá á conocer, ordinariamente, por la presencia alrededor del protoplasma, de un limbo diáfano y doblemente contorneado. Este doble contorno es muy fácil de observar en las cubiertas gruesas (óvulo, célula cartilaginosa); pero solo puede definirse en las muy delgadas (fibra muscular, nerviosa), á favor de los más poderosos objetivos. La substancia que constituye la membrana es homogénea, y tan resistente á la acción de los reactivos como la misma cubierta nuclear.

El grosor de la membrana, ordinariamente uniforme en toda su extensión, muestra á veces espesamientos locales. Ejemplo de esta particular disposición, son las llamadas chapas de las células del epitelio intestinal, y vibrátiles de la tráquea. Estas placas corresponden á la superficie de la célula necesitada de mayor protección, es decir, á la cara que limita la cavidad intestinal en las unas, la traqueal y bronquial en las otras. Cuando una de estas chapas se examina de perfil, deja ver unas estriaciones paralelas y perpendiculares al plano de la misma, que los histólogos han tomado por conductitos, por cuya virtud el contenido celular hallaríase en comunicación con la superficie libre de la mucosa. Parecida disposición estriada ofrece la membrana del óvulo.

La superficie externa de la membrana está bien limitada, por lo común, de las materias intercalares; sin embargo, ciertas cubiertas, la cápsula cartilaginosa por ejemplo, se continúan y confunden con la substancia fundamental, de la que parecen representar la más reciente sedimentación. La superficie interna, unas veces mantiene adherencias con el protoplasma (células vibrátiles, fibras musculares, etc.); y otras es perfectamente aislable (célula grasienta, cartilaginosa, nerviosa ganglionar, etc.)

2.—**Membrana secundaria ó capa cortical del protoplasma.** Además de la cubierta descrita, representación de la túnica de celulosa de los corpúsculos vegetales, existe otra, más internamente situada, análoga en un todo al utrículo primordial de H. Mohl. Esta es una capa de protoplasma periférico, más transparente y denso que el alojado cerca del núcleo, el cual desde hace tiempo, se conoce con el nombre de zona ó capa cortical. Esta cubierta no falta en ningún elemento, aun en los desprovistos de la membrana, aislable, y continúase con el protoplasma, de cuya textura participa.

Aunque goza de las propiedades generales del protoplasma, posee atribuciones propias. Ella es la que se opone á la absorción de las soluciones de carmín, de hematoxilina, etc., cuando se someten los leucocitos y las células epiteliales vibrátiles vivas á la acción de esas substancias, como lo prueba el hecho de que la menor desorganización de la membrana, ó la muerte del protoplasma, dan por resultado la inmediata coloración del núcleo.

Cabe, pues, la admisión, en el seno de la capa cortical, de una

actividad ó virtud selectiva, por la cual se cierra el paso á las substancias dañosas y se abre la puerta á las útiles. Mas no siempre se ejercita esta notabilísima función; sabido es cuán fácilmente penetran en la célula los ácidos y bases diluídas, igualmente que ciertas materias colorantes, fuchina, eosina, moreno de anilina, etc., las cuales tiñen el protoplasma aun en plena vitalidad.

3.—**Puentes y pestañas.** Como partes anejas á la membrana, pueden incluirse aquí los puentes que unen á ciertas células epiteliales, así como los apéndices vibrátiles.

Las células pavimentosas del cuerpo de Malpigio de la piel, muestran, cuando se las examina á débiles aumentos, un contorno como engranado, que recuerda las suturas craneales. Estas disposiciones engranadas fueron descritas por casi todos los histólogos, hasta que Rizzozero llamó la atención acerca de este punto, demostrando que los apéndices que surgen de los bordes celulares, no terminan en la materia intercelular, sino que pasan á las células vecinas, constituyendo anastomosis protoplasmáticas. Ranvier ha confirmado esta disposición, considerando cada puente de unión como una ó varias fibrillas del retículo celular, que establecen comunicación entre los protoplasmas malpigianos.

Nosotros hemos estudiado cuidadosamente estos puentes, aprovechando, á fin de facilitar el examen, las células gigantes de los epiteliomas pavimentosos. En unos casos, los hilos de unión nos han parecido más gruesos que los del retículo (véase la fig. 29), y en otros, iguales ó casi iguales en espesor. En algunas células se los puede seguir hasta cerca del núcleo en su marcha paralela, y aun más allá, pareciendo como que se continúan con los hilos del lado opuesto. Pero en ningún caso hemos logrado percibir textura fibrilar en los citados puentes, á pesar de haber utilizado á este fin poderosos objetivos de inmersión. Es de notar que jamás se anastomosan tales fibras durante su trayecto intra-protoplasmático, recordando, bajo este punto de vista, la disposición del armazón de ciertas células nerviosas de los peces.

Como la porción extracelular de los filamentos de unión se enrecia y adquiere gran refringencia, y la membrana celular parece continuarse con la periferia de los mismos, nosotros hemos defendido la opinión de que cada puente intercelular consta de un eje

central formado por la porción extracelular de un filamento del retículo y de un forro refringente suministrado por la envoltura protoplásmica (1). Kromayer ha defendido recientemente (2), aunque sin citarnos, esta misma opinión.

Por último, de la superficie de las células vibrátiles, salen unos apéndices, llamados pestañas, de menos de una milésima de espesor, que parecen continuación de la cubierta; mas un examen atento de las células demuestra que penetran á través de la chapa sobre que se asientan continuándose con la red protoplasmática. Somos, pues, de la opinión de Klein, que afirma que las pestañas son filamentos extracelulares del *reticulum,* y como tales, dotados de vitalidad. En el estado actual de la ciencia es imposible señalar membrana alguna en las pestañas, por más que consideraciones de orden fisiológico hacen probable su existencia.

(1) *Cajal:* Contribution a l'étude des cellules anastomosées des épithéliums pavimenteux stratifiés. Intern. Monats. f. Anat. u. Physiol. 1886. Bd. III. H. 7.

(2) *Kromayer:* Die Protoplasmafaserung der Epithelzelle. *Arch. f. mik. Anat. Bd.* 39. 1892.

CAPÍTULO VI.

Caracteres químicos de la célula.

El estudio de la composición química de la célula, está rodeado de grandes dificultades. La investigación micro-química demuestra que cada factor celular, por ejemplo, la cubierta, el retículo, el núcleo posee naturaleza química distinta; mas no ha sido posible hasta hoy averiguar cuáles son los principios inmediatos que integran aquellas partes, á causa de la dificultad de aislarlas para someterlas individualmente á los procederes de la química biológica. Así que sólo sabemos algo de la composición del protoplasma en conjunto, sin localizaciones ni detalles.

Y sin embargo, este conocimiento de la naturaleza química de cada parte, es indispensable para la dilucidación de los fenómenos químico-biológicos que en la célula se realizan.

Conocer los principios inmediatos que forman la célula en conjunto, pudo tener interés palpitante cuando se consideraba el protoplasma sin estructura y se pedía á la química la resolución del problema de la vida; mas hoy, después del descubrimiento del retículo y del armazón cromático, aquel conocimiento ha perdido casi toda su importancia.

Preciso es que la química, si ha de ilustrar la biología celular, marche al compás de la histología y lleve sus recursos analíticos á los nuevos dominios por ésta descubiertos, sopena de agitarse y perderse en estériles trabajos.

Hé aquí un breve resumen del estado actual de nuestros conocimientos en citoquimia.

1.—**Protoplasma.** Esta materia es una mezcla de multitud de principios albuminoides, solubles los unos, insolubles los otros y asociados á gran cantidad de sales y principios ternarios.

Coagúlase el protoplasma por el calor y á no muy altas temperaturas (50°); se coagula también después de la muerte, y bajo la influencia del ácido ósmico, crómico, pícrico, bicromatos alcalinos, el alcohol, agentes que poseen además la propiedad de endurecerlo.

Por lo demás, el protoplasma participa de las propiedades generales de los albuminoides. Al quemarse desprende vapores amoniacales; se tiñe de amarillo por el yodo, en rosa por el ácido sulfúrico y azúcar, en rojo por el nitrato ácido de mercurio; disuélvese en la potasa diluída y en el amoniaco. El ácido acético le proporciona extrema transparencia y le semidisuelve, etc., etc.

La composición inmediata del protoplasma no se ha podido averiguar en los animales, por la dificultad de obtener grandes cantidades de esta substancia en estado de pureza; pero algo se ha hecho en este sentido en las *plasmodias* de los *mixomicetos,* formadas exclusivamente de protoplasma.

Según Reinke (1), el protoplasma del *Fuligo séptica,* contiene, para 100 partes de materia seca, 30 de substancias azoadas, 41 de principios ternarios y 29 de cenizas.

Las materias azoadas, son: la *plastina,* principio sólido, insoluble en agua, muy semejante á la fibrina; la *lecitina, vitelina, peptonas, guanina, sarcina, xantina* y *carbonato de amoniaco.*

Las ternarias, son: los *ácidos grasos oleico, esteárico, palmítico; grasas neutras, azúcares,* etc.

Las minerales, son: la *cal* en combinación con los *ácidos láctico, acético, fórmico, oxálico, fosfórico, sulfúrico* y *carbónico;* el *fosfato de magnesia* y *de potasa,* el *cloruro de sodio,* etc.

Agreguemos á esto los fermentos: la *pepsina, diastasa, emulsina, fermento inversivo, fermentos coagulantes,* etc., que también han sido reconocidos en muchos protoplasmas; y *el agua,* ya de imbibición, ya de constitución, asociada á las referidas materias, y tendremos un resumen del resultado de los análisis recientes.

No puede indicarse con precisión la topografía de estos principios dentro del protoplasma; sólo se sabe que la plastina abunda en el retículo, que los albuminoides se hallan en gran parte disuel-

(1) *Botanische Zeitung.* 26 Nov. 1880.

tos en el enquilema, y que las grasas y fermentos forman á menudo las inclusiones.

No hay que olvidar que estos análisis se refieren á elementos jóvenes, embrionarios, poco ó nada diferenciados; pero en el curso del desarrollo y como consecuencia de la división del trabajo, el protoplasma suele contener otros principios, verdaderos cuerpos extraños, que, si no son necesarios para el entretenimiento de la vida individual de la célula, son indispensables al mantenimiento de la vida colectiva ó del sér de que forma parte. Estos son: la *hemoglobina,* alojada en las células hemáticas; la *keratina,* en las córneas de la piel; la *miosina,* en el fascículo muscular; la *globulina,* en los prismas del cristalino; la *melanina,* en las células pigmentarias; la *fotoestesina* en los bastones retinianos; la *mielina, cerebrina, neurokeratina,* etc., en los tubos nerviosos, etc.

2.—**Núcleo.** La composición química del núcleo es todavía menos conocida. La savia nuclear posee las reacciones de las materias albuminoides, y es probable participe de la composición del protoplasma, pues como á éste la palidecen los ácidos, la colorea en rojo el reactivo de Millon y en ella determinan precipitaciones el alcohol, ácido crómico, bicromatos, etc.

Pero los reactivos acusan en el núcleo, aparte de las substancias comunes al protoplasma, una materia especial, que le presta fisonomía propia, y nos da la clave de las singulares afinidades colorantes que le distinguen.

Este principio nuevo, *nucleina* de Miescher, *cromatina* de Flemming, es una materia proteica fosforada, cuya fórmula es: C^{58} H^{49} A_2^9 F_4^3 O^{44}, y caracterizada por su insolubilidad en el agua, su resistencia al jugo gástrico y ácidos diluídos, su solubilidad en el ácido nitrico y clorhídrico, y su apetencia notable por el verde de metilo, de cuyas propiedades participan las partes del núcleo (glomérulo, red cromática) que la contienen.

Los recientes trabajos de Schwarz y Zacharias han mostrado en el núcleo la existencia de 5 substancias albuminoides cuyos caracteres comunes son: disolverse en la potasa, resistir al ácido hidroclórico y ácido acético diluídos, disolverse en el cloruro de sodio al 10 °/o, etc. Los nombres de estas materias son: *pirenina, amfipirenina, cromatilina, nina, paralinina.*

a.—*Pirenina* (1). Se encuentra en los nucleolos verdaderos, y se caracteriza por su solubilidad en la tripsina y su insolubilidad en el jugo gástrico, cloruro de sodio al 20 °/o, agua de cal, ácido clorhídrico al 20 °/o, etc.

b.—*Amfipirenina*. Reside esta substancia en la membrana acromática del núcleo, y sus propiedades son: disolverse en la tripsina más fácilmente que la pirenina, y no ser atacable ni por el jugo gástrico, ácidos diluídos, sulfato de cobre, sal al 20 °/o, etc.

c.—*Cromatina*. Corresponde á la nucleina de los autores, y reside en forma de granos ó filamentos en el armazón cromático del núcleo. Es soluble en sulfato de cobre (reactivo que no ataca las demás substancias nucleares), así como en la tripsina, sal al 20 °/o pero insoluble en ácidos diluídos, jugo gástrico, etc.

d.—*Linina* (2). Se asocia á la cromatina para construir el armazón nuclear, solo que mientras la cromatina forma principalmente las partes del filamento nuclear que se colorean por el carmín, hematoxilina, verde de metilo, etc., la linina constituye aquellos trabéculos poco afines de estos reactivos tintóreos. Los llamados filamentos secundarios ó pálidos del armazón nuclear por Rabl, y los que Carnoy ha designado hilos de plastina, están constituídos casi exclusivamente de linina. Por lo demás, las proporciones relativas de cromatina y linina varían en los núcleos, aumentando ésta en el estadio de descanso y aquélla en el de actividad kariokinética. Los mismos cordones de las figuras kariokinéticas parecen constar de una ganga de linina donde yacen empotrados granitos de cromatina.

Las propiedades de la linina son: disolverse en la tripsina y en el agua de cal, precipitar por los ácidos diluídos, resistir al jugo gástrico, hincharse en la sal al 20 °/o, ser insoluble en el sulfato de cobre, etc. Se distingue de la plastina en que ésta es insoluble en sal al 10 °/o, en la tripsina y en las soluciones de potasa.

e.—*Paralinina*. Reside en el jugo nuclear, es decir, en las mallas del armazón cromático. Es soluble en tripsina y jugo gástrico, se hincha en sal al 20 °/o, es insoluble en ácido clorhídrico al 20 °/o, etcétera.

---

(1) De πυρὴν, núcleo ó hueso de fruta.

(2) De λίνον, hilo.

Según E. Zacharias el nucleolo, así como el armazón cromático, contendrían también plastina. Schwarz niega, sin embargo, la existencia de tal substancia en el armazón (1).

3.—**Membrana.** La cubierta aislable de las células goza de gran resistencia á los ácidos y á la digestión artificial. Donders la consideraba formada de *elastina,* principio con el que indudablemente tiene relaciones de parentesco. Sin embargo, la membrana celular no posee la resistencia de la elastina á la acción de los álcalis, ni las afinidades de ésta por el ácido pícrico, eosina, etc., ni goza tampoco en tan alto grado de la propiedad elástica.

Probable es que la membrana esté formada de *plastina* ú otra substancia análoga; pero en el estado actual de nuestros conocimientos nada puede decirse de cierto respecto á su naturaleza.

---

(1) Véanse los trabajos de Zacharias. *Botanique Zeitung,* 1881, p. 169; 1882, n.º 37 á 39; 1883 p. 2.9; 1885, n.º 17 á 19,

CAPÍTULO VI.

Propiedades fisiológicas de la célula.—Actividades de la vida de relación.

1.—**Consideraciones generales.** Hemos expuesto ya en otra parte que lo único que vive en el organismo es la célula, y que toda actividad de los seres orgánicos, cualquiera que sea su categoría y modalidad, debe achacarse al protoplasma y sus derivados.

Pero, para que las actividades de la célula se desenvuelvan, se precisa un estímulo, bien interior, bien exterior á la misma, sin el que la máquina celular con sus maravillosas aptitudes, permanecería en absoluta inacción, á la manera de una locomotora vacía de vapor y combustible.

Esa aptitud particular que el protoplasma posee de reaccionar ó entrar en acción bajo la provocación de los estímulos exteriores, se ha llamado *irritabilidad*. Dicha propiedad en actualidad ó en ejercicio desígnase con el nombre de *irritación*.

La irritabilidad es la característica de la materia viviente, el reactivo, por decirlo así, que distingue las substancias vivas de las substancias muertas.

Guardémonos bien de pensar que la aptitud de reaccionar del protoplasma es un impulso espontáneo engendrado por un principio interior de acción, que obra con independencia de los excitantes; tanto valdría suponer la libertad absoluta de los seres orgánicos.

Nó: la vida no es una fuerza, ni un principio, es un conflicto entre dos factores necesarios, el medio y el protoplasma; cuando uno de ellos falta ó gravemente se perturba, la vida desaparece.

De qué suerte este conflicto se verifica, por qué modo los estímulos del medio, agitando la máquina protoplasmática, dan lugar

á los variados actos que se llaman nutrición, respiración, secreción, movimiento, sensibilidad, es problema todavía no aclarado por la fisiología, bien que lo poco que de esto conocemos, nos autoriza á pensar que aquí no entran en juego otras fuerzas que las que imperan en la naturaleza inorgánica.

Y qué son los estímulos? Son las fluctuaciones de composición química, de temperatura, de presión, de electricidad, etc., de los líquidos interorgánicos. Estas variaciones relativas del medio ambiente dispiertan las latentes actividades del protoplasma, oprimiendo, por decirlo así, los muelles de la máquina vital para que entre en movimiento.

Cada especie celular tiene sus particulares estímulos, es decir, que existen variaciones del medio que afectan á unos protoplasmas con preferencia á otros, y son la causa determinante de sus actividades. El óvulo siente especialmente el estímulo espermático; el hematíe, el oxígeno del aire; la célula glandular, ciertos productos químicos de la sangre; la fibra contractil, la corriente nerviosa, etc. Estas notables simpatías por determinados excitantes están probablemente ligadas á condiciones físico-químicas desconocidas de cada raza de protoplasma.

No sólo debe estimarse el medio ambiente como condición ocasional de la irritación, sino como la fuente de las fuerzas utilizadas por las células en las reacciones fisiológicas. Los cuerpos vivos vienen á ser aparatos delicados que se nutren de las energías del ambiente, reflejándolas bajo las formas más variadas y desemejantes. Y, puede añadirse, que el mismo choque que hiere la superficie del retículo celular, es el que se refleja modificado, unas veces para engendrar la reacción motriz, otras el movimiento asimilativo, etc. A semejanza de las máquinas de la industria, el protoplasma no crea fuerza, sino que cambia su dirección y modifica su naturaleza. Si alguna vez son desproporcionados en intensidad el estímulo exterior y la reacción de la célula, es que ésta ha utilizado energías de reserva concentradas en las inclusiones alimenticias. Así se explica que un ligero roce produzca enérgicos movimientos musculares, que el estímulo del filamento zoospérmico determine las ricas y variadas actividades del desarrollo del huevo, etc.

Después de lo expuesto, ¿qué debemos entender por irritación?

A nuestro modo de ver, las designaciones irritación, irritabilidad, impresionabilidad, etc., son simplemente términos generales que expresan el resultado mecánico de la estructura y propiedades químicas de las partes componentes de la célula. Es tal la construcción del aparato celular, que cuando un estímulo le provoca, desarrolla de un modo fatal y necesario una misma especie de actividad, siempre que concurra igualdad de condiciones interiores y exteriores.

2.—**División de las actividades de la célula.** Los estímulos de la vida varían en intensidad y naturaleza; por consiguiente, deben variar también las manifestaciones dinámicas del protoplasma. De ahí la posibilidad de distinguir en especies estas manifestaciones. Virchow reconoce en la célula una propiedad fundamental, la *irritabilidad,* pero admite tres modalidades de ésta, ó sean tres clases de manifestaciones fisiológicas del protoplasma. Estas son: la *irritabilidad nutritiva,* la *funcional* y la *formativa.*

Llámase *irritabilidad nutritiva* la aptitud que los protoplasmas poseen de reaccionar, apoderándose de las substancias alimenticias que les rodean, para incorporarlas á su propia materia. Desígnase *irritabilidad funcional* la capacidad que poseen ciertos elementos de poner en juego una actividad predominante para cuyo ejercicio están especialmente organizados (contracción en la fibra muscular, secreción en la célula glandular, atracción del oxígeno en el hematíe, etc.) Y por último, conócese con la expresión *irritabilidad formativa* la virtud que todo protoplasma tiene de entrar en segmentación, engendrando otros elementos semejantes á él.

La distinción de estas modalidades de irritabilidad es puro artificio lógico. El protoplasma no ejerce separadamente la actividad funcional, la formativa y la nutritiva: todos estos trabajos se desempeñan á un tiempo en la célula, identificándose en un todo fisiológico. Así, cuando una célula se reproduce, es asiento coetáneamente de una nutrición exagerada; cuando una pestaña vibrátil oscila, respira y se nutre también, aprovechando sus reservas alimenticias. Si algunas veces vemos persistir el movimiento en las células arrancadas del cuerpo del animal, no debemos pensar que se ha interrumpido la nutrición, conservándose no más la irritabilidad funcional, debemos suponer más bien que ambas actividades se desempeñan de un modo simultáneo, costeando el protoplasma estos suplemen-

tos funcionales del fondo de sus inclusiones ó del plasma que le rodea.

En vez de la distinción artificiosa de Virchow, cabe establecer una división más natural de las reacciones del protoplasma. El elemento orgánico es un sér vivo y autónomo. Como tal, en él se efectúan las tres grandes funciones de relación, nutrición y reproducción; por consiguiente nada más sencillo que adoptar esta división en el estudio de las propiedades fisiológicas del protoplasma.

Y ¿cuál es el asiento de estas maravillosas actividades? No cabe ya, descubierta la estructura del protoplasma, atribuir al todo esas variadas manifestaciones de la vida. Es mucho más conforme á la razón pensar que cuando se dan (y se dan casi siempre) varias acciones simultáneas en la célula, por ejemplo, la nutrición, reproducción, secreción, respiración, etc., cada órgano de la misma se encarga de un trabajo particular.

3.—**División del trabajo.** Todos los protoplasmas son susceptibles de nutrirse, moverse, sentir y reproducirse, ó en otros términos, las modalidades de la irritabilidad son comunes á los bioplasmas, así animales como vegetales. Y ahora debemos consignar que, si bien la célula es capaz de desempeñar toda suerte de actos funcionales, cada una se entrega á un género de trabajo con preferencia á otro, escogiendo la actividad para que se halla especialmente organizada; el resto de las funcionalidades cardinales quedan obscurecidas, mas no aniquiladas por aquel trabajo especial, que puede considerarse como la profesión del elemento orgánico.

Por ejemplo: la célula muscular, siquiera no haya perdido las demás modalidades irritatorias, la nutrición, secreción, respiración, etc., se ha educado y diferenciado expresamente para ejecutar la reacción del movimiento. De igual manera, el protoplasma glandular, sin haber olvidado ningún atributo fisiológico, ha cultivado y perfeccionado el de la creación de principios inmediatos, grasa, fermentos, azúcares, etc., abandonando el ejercicio de las demás actividades á otras familias celulares que sienten particular vocación para realizarlas.

Se ve, por lo expuesto, que las profesiones vitales no consisten en el ejercicio de actividades nuevas y originales; resultan, al contrario, del mejoramiento y exageración de aquellas propiedades

que, en estado confuso y rudimentario, albergan todos los protoplasmas.

Las profesiones celulares ó sean los actos que preferentemente desempeñan los elementos adultos, constituyen lo que llamó Virchow *irritación funcional*. Obsérvese que las irritaciones funcionales no son en puridad sino, ó la exageración de algunas reacciones pertenecientes á la vida nutritiva (síntesis químicas en las células glandulares y epiteliales), ó á la vida de relación (contracción de la fibra muscular, trasmisión de ondulaciones en la nerviosa, progresión en el leucocito).

En el principio del sér, las células carecen de profesión vital; todas presentan iguales ó casi iguales caracteres anatómicos y parecidas aptitudes fisiológicas; más adelante, como si se adaptasen á nuevas condiciones de medio orgánico, varían de forma, de magnitud y aun de estructura, distribuyéndose en familias y gremios profesionales, cada uno consagrado al cultivo de un trabajo particular.

Es, bajo este punto de vista, comparable el organismo en evolución, á un pueblo que se diferencia y progresa, pasando del estado vagamundo y salvaje al estado de organización social: cada uno de los individuos que, cuando autónomo ocurría por sí, bien que groseramente, á todas sus necesidades, necesita ahora, establecidas las profesiones sociales, de la producción de los otros: y en la vida social como en la vida celular, esta división del trabajo entraña un notable progreso, pues lo que se pierde por un lado en independencia, se gana por otro en bienestar individual y en mejoramiento del trabajo colectivo. Abusando de la comparación, podríamos añadir que así como la huelga de un gremio de ciudadanos causa un desequilibrio social considerable, porque los demás asociados no saben ejercer la profesión de los huelguistas, así también en los estados celulares, las huelgas forzosas de las células de tal ó cual profesión, musculares, nerviosas, glandulares, conectivas, etc., ó en otros términos, sus alteraciones anatómicas, incompatibles con la producción del trabajo fisiológico, producen por igual causa serios conflictos orgánicos, que pueden acarrear la ruína de la colectividad.

El ejercicio de una actividad predominante, obscurece, pero no apaga las demás modalidades irritatorias de la célula. Cualquiera

que sea la diferenciación sufrida por el protoplasma, jamás pierde éste la reacción nutritiva. Si ciertas células muy diferenciadas parecen incapaces de reproducirse, no quiere esto decir que hayan caído en completa esterilidad, pues la experiencia prueba que en ciertas condiciones (inflamación) pueden recobrar sus aptitudes genésicas después de volver al estado embrionario.

Y ¿cuál es la causa de esta división del trabajo que se establece en el cuerpo del embrión desde los primeros días de la vida? Imposible es, en el estado actual de la ciencia, contestar á esta pregunta. Se sabe que no es la causa la diferenciación anatómica. Antes que aparezca la estructura de la fibra estriada cardíaca, se contraen las paredes del corazón del embrión. Antes que la fibra nerviosa adquiera la complicada textura que se revela en el estado adulto, ya transmitía corrientes y transformaba movimientos. Precede, pues, la diferenciación fisiológica á la anatómica, bien así como en las profesiones humanas, comienza á realizarse la división del trabajo antes que cada individuo esté adaptado anatómicamente á la profesión elegida. Las piernas del bailarín, los brazos del panadero, el biceps del gimnasta, la mano callosa del labrador, son efecto y no causa del oficio que desempeñan.

Fenómenos de la vida de relación de la célula.

La célula, como los seres independientes, es susceptible de ponerse en relación con los objetos que la rodean. Las actividades que con este fin tienen lugar en el protoplasma son las más nobles é importantes de todas, y en ellas se funda principalmente la doctrina de la individualidad fisiológica de la célula. Un elemento que se mueve por sí, sin intervención del sistema nervioso, libre de toda conexión vascular, y en ocasión en que la vida del todo orgánico de que procede ha desaparecido, no puede menos de ser considerado como un sér independiente y vivo. En este caso se hallan los leucocitos y células vibrátiles de los batracios que, arrancadas del cuerpo del animal y sometidas á condiciones de humedad y de nutrición convenientes, pueden vivir y ofrecer movimientos espontáneos durante algunos días.

Los actos de la vida de relación de la célula son: *los movimientos activos, la sensibilidad, la memoria, la neurilidad,* etc.

1.—**Movimientos.** Divídense en *brownianos, amiboides, oscilatorios* y de *contracción.*

a.—*Movimiento browniano.* Así llamado por ser R. Brown el primero que lo señaló. Consiste en un temblor, á manera de danza, que ofrecen todas las partículas de menos de 1 μ de tamaño flotantes en los líquidos acuosos ó de muy poca consistencia.

Lo que caracteriza el movimiento browniano es que, los gránulos que lo presentan, si bien están en contínua conmoción, apenas se desvían de su sitio y nunca recorren más de un círculo de dos ó tres milésimas. En esto se distingue el browniano del movimiento que ofrecen algunos cuerpos vivos (vibriones, bacterias, etc.), los que, aunque parecen temblar del propio modo, son susceptibles además de trasladarse á grandes distancias en el campo del microscopio.

El movimiento browniano no es un acto vital, pues lo presentan á menudo las partículas colorantes insolubles y todos los gránulos, tanto orgánicos como inorgánicos, que flotan en los líquidos. Ni cesa nunca tratando las preparaciones con substancias corrosivas y venenos violentos. En cambio, basta aumentar la consistencia de los vehículos que contienen corpúsculos con movimiento browniano (se consigue añadiendo glicerina, soluciones siruposas de azúcar, goma, etc.), para que cese bruscamente toda conmoción.

Rara vez ofrecen este movimiento las granulaciones celulares; no obstante, pueden presentarlo las inclusiones de las vacuolas del protoplasma vegetal, y los gránulos de algunas células animales (leucocitos, glóbulos de moco, células pigmentarias, etc.), tratadas por el agua. La aparición del referido fenómeno en el protoplasma de cualquier elemento, prueba siempre la presencia de un enquilema líquido y gránulos independientes.

Se cree generalmente (bien que sobre este particular nada se sabe de cierto) que el movimiento browniano es debido á la agitación molecular que produciría la desigual evaporación de los líquidos. Cuando tiene lugar en la célula, achácase á la influencia de las corrientes exosmósicas y endosmósicas que atraviesan la membrana.

b.—*Movimientos amiboideos.* Así llamados, por haberse obser-

vado frecuentemente en el protoplasma de los *amibos,* pequeños seres monocelulares pertenecientes al reino de los protistas.

Estos curiosos movimientos son perceptibles en casi todas las células jóvenes y elementos sin cubierta, tanto de los vertebrados como de los invertebrados. Muchos zoósporos de las algas, las plasmodias de los mixomicetos, etc., son también capaces de realizarlos.

Las células provistas de cubierta gruesa separable, ó aquellas que merced á la división del trabajo han llegado á un alto grado de diferenciación anatómica, carecen de movimientos amiboides (células nerviosas, glandulares, grasientas, del tubo nervioso, del hueso, etc.) Nos referimos aquí á fenómenos de deformación y traslación suficientemente rápidos para ser apreciados por la vista; porque en realidad no puede negarse á ningún elemento cierta movilidad lenta y obscura debida á los fenómenos de crecimiento y adaptación al medio.

A fin de dar á conocer á nuestros lectores la naturaleza particular de los movimientos amiboides, vamos á describir los que presentan los leucocitos de la rana convenientemente conservados vivos en la cámara húmeda y en una gota de humor ácueo.

Al principio de la observación, estos glóbulos, más pequeños que los hematíes, se nos ofrecerán con forma esférica, contorno riguroso y obscuro, en fin, del propio modo que cuando circulan dentro de los capilares; pero al cabo de algún tiempo de examen, se advierte, no sin sorpresa, que el contorno del leucocito, antes liso, se eriza de espinas ó puntas de un protoplasma más transparente y menos granuloso que el alojado en el cuerpo celular, y estas espinas vegetan y se ramifican, afilándose tanto en sus extremos que apenas pueden percibirse. Llama la atención el contorno sumamente pálido de los referidos apéndices, que contrasta con el obscuro y bien definido del restante protoplasma. Después de un tiempo variable, esta forma esférica, con espinas, sufre hondas transformaciones; ya es un casquete esférico que, por la parte rota, ofrece un penacho de prolongaciones llameadas, ya un cuerpo oblongo con raíces en un extremo y ramas en el otro, ya formas prolongadas é irregulares que desafían toda tentativa de comparación, cuanto más de descripción (véase la fig. 38).

Estas infinitas configuraciones cambian á cada momento, y, no obstante su rapidez, no son perceptibles á la vista. A la manera del de las flechas de un reloj, el movimiento de los apéndices sarcódicos, no puede sorprenderse sino por comparación entre dos instantes algo separados de tiempo. Sin embargo, hemos visto en dos ó tres casos, en leucocitos gruesos de rana y en ocasión en que éstos se hallaban como agobiados por la presión de varios hema-



Fig, 38.—Transformación de dos leucocitos de rana en el intérvalo de 10 minutos.—La primera serie representa las metamórfosis de un glóbulo blanco, 1, el cual en las fases siguientes 2, 3, etc., adquiere una vacuola que desaparece en la forma 8. La segunda serie corresponde á otro glóbulo, también provisto de vacuolas en la forma 3, 4 y 5. Cuando el leucocito había llegado á la fase 7, tratóse por el violeta de dalia ácido y mostró un núcleo fuertemente deformado.

ties, un movimiento amiboide tan rápido, que apenas se le podía seguir con la vista. Esta especie de convulsión parece agotar en breve las reservas alimenticias de dichos glóbulos, pues se los vé al poco tiempo perder toda movilidad y adquirir la forma esférica; forma que, dicho sea de paso, anuncia siempre, cuando se presenta después de un período de movilidad, la muerte de los leucocitos.

La observación atestigua que no sólo se deforman los glóbulos, sino que cambian de lugar, efectuando una verdadera progresión ó reptación sobre el porta-objetos. El mecanismo de esta progresión parece ser el siguiente: Comienza por fijarse uno de los apéndices más largos y gruesos del leucocito sobre el cristal, y una vez bien inserto, tira hacia sí ó absorbe el resto del protoplasma que se

quedó rezagado. Removido éste y trasladado á la posición del primer apéndice, surgen otros en igual dirección, repitiéndose indefinidamente el mismo fenómeno.

Nótanse de vez en cuando en el protoplasma del leucocito en movimiento, unos espacios claros, redondos, correctamente limitados, sin granulaciones en su interior, los cuales aparecen y desaparecen en el intérvalo de algunos minutos. Son las vacuolas, ya mencionadas en otra ocasión, es decir, espacios huecos producidos, ó por la retracción de un punto del protoplasma, ó por la anastómosis de dos apéndices sarcódicos.

Los fenómenos amiboides del protoplasma que acabamos de exponer, se observan también en los glóbulos blancos del hombre conservados vivos en la cámara húmeda y bajo una temperatura de 37°.

El núcleo carece de contractilidad amiboide. Las deformaciones, estiramientos y hasta divisiones que sufre el núcleo de los leucocitos, á consecuencia de las transformaciones del protoplasma, pueden considerarse como fenómenos pasivos, debidos á la acción del retículo celular.

Condiciones de la contractilidad amiboide. Los estímulos de la irritabilidad contractil de los leucocitos y demás elementos independientes como los amibos, infusorios, bacterias, etc., son: la excitación tactil (Massart y Bordet); la presencia del oxígeno (Ranvier); y la *quimiotaxia* (Pffeifer).

La excitación tactil de los leucocitos ocasionada, ora por su colisión con la pared de los vasos, ora con un cuerpo extraño cualquiera (deformaciones activas del protoplasma de estas células en la sangre extravasada) dan lugar, en el primer caso, á la diapedesis, y en el segundo, al englobamiento ó contorneamiento (según sea el tamaño) de los cuerpos ó partículas estimuladoras.

Provoca también, según Ranvier, la contractilidad amiboide la presencia del oxígeno que parece ser *sentido,* en alguna manera, por el protoplasma, como lo prueba la observación de la sangre viva conservada en cámara húmeda: pasadas algunas horas, los leucocitos, tras de numerosas contorsiones y deformaciones, acaban por acumularse en torno de las burbujas de aire. Los corpúsculos que, por obstáculos insuperables, no han logrado alcanzar la proximidad

de la atmósfera, yacen inmóviles y asfixiados, exhibiendo claramente el núcleo, indicio de un principio de alteración cadavérica.

Esta atracción por el oxígeno libre ó en disolución se revela también enérgicamente en las bacterias aerobias.

Así, Balbiani ha visto, en una preparación de sangre de gusano de seda, las bacterias correr y rodear los glóbulos para absorber el oxígeno de que éstos son portadores. Pero las experiencias más bellas é interesantes á este respecto se deben á Engelman, quien ha hallado en ciertas bacterias, tal sensibilidad por el oxígeno, que pueden denunciar, á favor de sus movimientos, la cantidad de un trillonésimo de miligramo de este gas. Los corpúsculos generadores de oxígeno, en los experimentos de este sabio, son los granitos de clorofila suspendidos en un líquido donde pululen bacterias movibles. En presencia de la luz, la clorofila descompone el ácido carbónico de la atmósfera, fija el carbono y desprende oxígeno, en pos del cual marchan los microbios que se agrupan al rededor de los corpúsculos de aquella materia colorante.

Si en vez de la luz blanca, se ilumina la preparación con los diversos colores del espectro, se revela una propiedad singular de la clorofila: el máximo de producción de oxígeno y, por lo tanto, la acumulación de bacterias, ocurre cuando se utilizan los rayos rojo y violeta, que son precisamente los colores de absorción de dicha substancia (1).

La propiedad que las células contractiles poseen de ponerse en movimiento hacia los parajes en que se desprenden determinadas substancias químicas, ha sido llamada por Pffeifer, *chimiotáxia*. Estas mismas substancias se califican de *materias-reclamos* ó materias *quimiotácticas*. La quimiotáxia fué primeramente observada por Pffeifer en los espermatozoides de las criptógamas, operando en las condiciones siguientes: en un líquido con espermatozoides en suspensión, sumergía tubitos de cristal cerrados por un extremo, y llenos de una solución, ya de ácido málico, ya de azúcar de caña. Transcurrido un cierto tiempo, los elementos espermáticos, como si percibieran las corrientes de difusión originadas en los tubitos abiertos, penetraban en éstos, empapándose de la materia reclamo.

(1) *Engelman.:* Botanische Zeitung. 1882, 1883, 1886, etc.

El fenómeno de la fecundación de los archioógonos de las criptógamas obedece á la misma causa; pues según Pffeifer, estos últimos contienen las referidas materias reclamos (ácido málico, ó azúcar de caña, según las especies) que sueltan en el liquido ambiente, suscitando la contractilidad de los espermatozoides.

La virtud quimiotáxica ha sido confirmada recientemente en los leucocitos, por Gabritchewski, Massart y Bordet, Buchner, y Metchinikoff. Los leucocitos serían particularmente solicitados por las materias que segregan los microbios, así como por todas aquellas substancias originadas por la descomposición de células muertas.

La fagocitosis de Metchinikoff, es decir, la acción que los leucocitos y ciertos elementos conectivos poseen de engullir y digerir microorganismos, sería simple consecuencia de la contracción amiboide del protoplasma bajo la provocación de las materias reclamos.

También la influencia luminosa suscita la contractilidad de algunos elementos. Entre los infusorios flagelados, existen algunos como las *euglenas (Euglena Ehrenbergii,* etc.) que si se colocan en un vaso, intensamente iluminado por un borde, dirígense rápidamente del lado de la luz; lo propio sucede con los zoosporos de ciertas algas. Todos estos microorganismos sensibles á la luz, poseen manchas pigmentarias rojizas, llamadas impropiamente *máculas oculares,* á cuyo poder absorbente se atribuye la excitación contractil del protoplasma.

La propiedad contractil se localiza generalmente en el retículo ó espongióplasma del cuerpo celular. No obstante, Schäffer sostiene que los pseudopodos de los leucocitos se deben exclusivamente á hinchazones ó gibas de la cubierta, producidas por acumulación activa del jugo celular (1). Estos chorros de liquido determinarían también las corrientes protoplasmáticas de las células de la *vallisneria* y la agitación de las pestañas vibrátiles de los epitelios. El retículo celular sería completamente pasivo en el fenómeno.

c.—*Corrientes protoplasmáticas.* Ciertas células de las plantas, rodeadas de una membrana resistente que no les consiente movimiento de traslación, presentan una agitación ó circulación del enquilema sumamente curiosa. Recordemos, para comprender la

(1) *Schaffer:* On the structure of amaeboid protoplasm. 1891.

forma de este movimiento, que las células vegetales, durante una especial fase evolutiva contienen, además de la membrana de celulosa: 1.°, el utrículo primordial, ó sea una capa de protoplasma periférico, extendido por debajo de la membrana; 2.°, un núcleo excéntrico rodeado de cierta cantidad de protoplasma enlazado al utrículo primordial á favor de unos cordones divergentes también protoplasmáticos; y 3.°, unas vacuolas ó grandes espacios claros llenos de un líquido transparente llamado jugo celular. Ahora bien, en células iguales ó semejantes á las descritas, pertenecientes á los pelos de *Chelidonia, Tradescantia, Cucurbita pepo,* etc., es donde el expresado movimiento se manifiesta. Consiste este fenómeno en unas corrientes de enquilema que circulan por los cordones del protoplasma, dirigidas, en unos, desde el núcleo al utrículo primordial, y en otros, desde el utrículo al núcleo. Estas corrientes son suficientemente enérgicas para arrastrar á su paso las granulaciones del enquilema y aun las inclusiones más gruesas, como los granos de clorófila, etc. La dirección y el número de corrientes en cada cordón es sumamente variable. A veces se observan en éstos tres corrientes: dos marginales centrípetas (entendiendo por tales las que van al núcleo), y una central centrífuga; y tampoco es raro hallar dos movimientos solamente en cada hilo, uno de ida y otro de vuelta al protoplasma perinuclear. La velocidad del movimiento es también muy variable. En los pelos estaminales del *Tradescantia virginica* es de 0,8^{mm} al minuto; de 0,7^{mm} en los del *Hyosciamus niger;* de 0,3^{mm} en los pelos de las hojas de la ortiga, etc.

La causa de las corrientes protoplasmáticas es, muy probablemente, la contracción del retículo, y su objeto difundir por toda la célula los jugos nutritivos, regularizando la asimilación (1).

d.—*Movimientos de oscilación de las células.* Los ofrecen protoplasmas libres y alargados como los zoospermos, vibriones, bacterias, espirilos, etc., y también algunas partes diferenciadas de células perfectas, por ejemplo: las pestañas vibrátiles de los corpúsculos epiteliales, los apéndices de los infusorios ciliados, etc.

Para examinar cómodamente el movimiento vibrátil nada mejor

(1) Véanse para más detalles los tratados de Botánica, por ejemplo: la obra de Van Tteghem: *Traité de Botanique,* 1884, pág. 480.

que echar mano de la mucosa del exófago ó lengua de la rana, donde las pestañas son largas y sumamente vivaces. Póngase al efecto sobre un porta-objetos y en una gota de agua un trozo plegado de mucosa lingual recientemente cortada, y enfóquese exclusivamente el borde correspondiente al punto doblado, porque este punto, por estar al abrigo de la presión de la laminilla cubre-objetos, es el solo donde los movimientos se efectúan con desembarazo. Observando en estas condiciones, no tarda en descubrirse junto al borde del preparado un movimiento rapidísimo, así como una corriente impetuosa que arrastra á su paso detritus orgánicos, células epiteliales desprendidas y hematíes extravasados. Aunque desde el principio de la observación se advierten los movimientos, no puede discernirse ni su forma ni su causa; mas al cabo de algún tiempo, cuando ya las reservas alimenticias de las células escasean y el oxígeno falta, la oscilación se hace lenta y premiosa, y se echa de ver que la originan unos pequeños apéndices, colgados del borde de las células como los pelos del mango de una brocha, sometidos constantemente á un movimiento pendular. A medida que la agitación se paraliza, nótase que las pestañas ejecutan otros movimientos también; unas veces se mueven ondeando como la cuerda de un látigo, otras doblándose y enderezándose como un dedo, y otras describiendo un cono de base periférica y de vértice central, es decir, ejecutando una verdadera circunducción.

El movimiento de los zoospermos, igualmente que el presentado por las bacterias, vibriones y espirilus, etc., es semejante al ondear de una cuerda blandamente agitada y se debe verosímilmente á contracciones laterales alternativas del protoplasma. Los espirilos deben además su progresión á un movimiento en hélice ó en barrena (1).

e.—Contracción. El movimiento amiboide perfeccionado, agrandado por la célula del músculo, toma el nombre de contracción. Difiere ésta de aquél en dos notas principales: 1.ª, la contracción

(1) Recientes estudios prueban que todos los microbios dotados de movimientos espontáneos poseen flagelos ó apéndices contractiles, que desempeñan el mismo papel, bajo el punto de vista del mecanismo de la progresión, que los flagelos de los infusorios. Aunque tales apéndices habian sido entrevistos por Koch y Neuhaus, el mérito de haber imaginado un método especial para teñirlos, de resultados seguros para todas las bacterias movibles, corresponde á Loffler (1891).

muscular se ejerce en un solo sentido, la amiboidea en todos; 2.ª, el movimiento amiboide es libre y responde á toda clase de estímulos, el muscular es un acto disciplinado y subordinado al sistema nervioso, aparato que posee durante la vida el exclusivo privilegio de excitarlo.

En general, los movimientos del protoplasma sólo tienen lugar bajo temperaturas que no pasen de 50° ni bajen de 0°. Un frío de—7° paraliza la actividad de la célula, mas no la destruye, pudiendo recobrar ésta sus movimientos al volver á temperaturas normales, como lo ha demostrado Schenk en los leucocitos de la rana.

El agua, y en general los líquidos poco consistentes, aceleran los movimientos; las soluciones gomosas ó salinas concentradas, los entorpecen y paralizan.

La presencia del oxígeno es condición indispensable para el mantenimiento de la actividad motriz de la célula, y lo prueba el hecho de que, extraído el oxígeno del agua en que nadan infusorios y amibos, paralizan éstos sus movimientos.

También los anestésicos hacen cesar los movimientos del protoplasma, así como el opio, el curare, etc., recobrándolos tan pronto cesa la acción de estos cuerpos. Las corrientes eléctricas enérgicas determinan una brusca tetanización del protoplasma, que se revela en los leucocitos en variación, por la brusca adquisición de su forma redondeada.

Las soluciones ácidas y alcalinas suprimen también los movimientos de la célula. Y, cosa singular, cuando, ó por la acción de los ácidos ó por exceso de fatiga, los movimientos han cesado, las soluciones alcalinas, (por ejemplo, las de sosa y de potasa), despiertan nuevamente la excitabilidad del protoplasma, como ya lo demostró Virchow en las pestañas vibrátiles.

2.—**Neurilidad ó trasmisibilidad.** Cuando un protoplasma es herido por un estímulo exterior, la conmoción sufrida trasmítese en seguida por el retículo á la totalidad de la célula, la cual, plenamente impresionada, entra en reacción. Este movimiento que recorre ahora las hebras del protoplasma y sacude el armazón del núcleo, es muy probablemente de otra naturaleza que aquel que conmovió la cubierta de la célula. La ondulación luminosa, la agitación calorífica ó el impulso mecánico, redúcense, al pasar por la trama del

protoplasma, á un movimiento ondulatorio particular, idéntico en el fondo al que abusivamente se ha llamado fluido nervioso.

Esta propiedad, que no vacilamos en considerar general á todos los protoplasmas, de transformar los movimientos más diversos en ondulaciones especiales y trasmitirlos á grandes distancias, se localiza y perfecciona en el cilindro eje y en las células nerviosas; protoplasmas que tienen por oficio poner en conjunción y armonía los territorios más apartados del organismo, haciéndolos entrar, como si estuviesen en contacto, en conflicto recíproco.

3.—**Memoria de las células.** Aquí llegamos á un terreno un tanto resbaladizo. La memoria es función del sistema nervioso y se acompaña de fenómenos de conciencia que sería harto temerario atribuir á la célula. Pero quizás haya motivo para otorgar al protoplasma una cierta memoria inconsciente, arreglada á sus limitadas necesidades. La expresión *memoria inconsciente*, designa esa tendencia singular que las unidades vivientes poseen de reproducir los estados químicos y morfológicos que los agentes del medio imprimen en ellas durante larga evolución.

La admisión de esta cualidad, atribuída no sin razón por Elsberg y Häckel á toda la materia viviente, puede explicarnos algunos fenómenos peculiares á las partes vivas que, de otra suerte, serían incomprensibles.

Tal es el hecho de que las células neoformadas reproduzcan constantemente la estructura y actividades fisiológicas predominantes en los elementos progenitores. Así, por ejemplo, todos los corpúsculos nacidos de la hoja embrionaria mesodérmica, persisten en su carácter funcional originario, que es la aptitud formatriz de materias amorfas y colágenas. Todos los corpúsculos dependientes de la hoja ectodérmica ó epitelial conservan los rasgos típicos de su raza, que son: no engendrar materias amorfas, vivir en recíproco contacto y entregarse á la producción de síntesis químicas. Obran, pues, estas células como si se acordaran de las tradiciones anátomo-fisiológicas de su raza y procuraran conservarlas incólumes á despecho de las influencias de los medios orgánicos que tienden á modificarlas.

El perfeccionamiento de esta memoria inconsciente, con nuevas mejoras y desarrollos, constituye quizás la función de ciertas célu-

las nerviosas de los hemisferios cerebrales, las cuales dedican su actividad á conservar y poner á la disposición de otras individualidades más superiores los clichés ó representaciones dinámicas de las cosas, representaciones invisibles que se revelan bajo la influencia de la atención, de igual manera que se desenvuelve la imagen latente fotográfica en una placa de bromuro argéntico bajo la acción del baño reductor.

4.—**Sensibilidad.** Así se llama por muchos autores la propiedad que las células poseen de entrar en acción bajo la provocación de los estímulos, pero sin que la reacción desenvuelta se acompañe de verdadera percepción. Tomada en este sentido la sensibilidad no es más que la misma irritabilidad. Nosotros consideramos con Bernard la sensibilidad, no como propiedad del protoplasma, sino como función del sistema nervioso. Usando dicho término solamente en este último sentido, se evitan las confusiones que forzosamente han de resultar de aplicar al protoplasma una designación que hasta ahora ha servido para expresar una de las facultades del espíritu.

CAPÍTULO VII.

Irritabilidad nutritiva de las células.

Toda célula es capaz, en virtud de su propiedad de reaccionar sobre el medio químico en que vive, de elegir y absorber las materias que deben reemplazar las eliminadas por desasimilación, manteniendo de esta suerte la integridad químico-morfológica del protoplasma y núcleo.

El acto nutritivo es un proceso complejo desconocido en su mecanismo. Para comodidad expositiva puede descomponerse en varios actos elementales, á saber: prehensión, absorción, asimilación, crecimiento, excreciones y secreciones.

Prehensión.—Es la propiedad que poseen algunos corpúsculos autónomos (amibos, infusorios, foraminíferos, radiolarios, etc.), de agarrar y englobar partículas orgánicas alimenticias. En los seres pluricelulares semejante propiedad se ha perdido en gran parte; no obstante, consérvanla los leucocitos, las células del tejido conectivo y los osteoclastos y mieloplaxias de la médula ósea.

Como expusimos más atrás, al tratar del movimiento amiboide, los leucocitos y amibos engloban las partículas alimenticias, tendiendo hacia ellas expansiones protoplasmáticas retractibles; pero en los infusorios dotados de una cavidad bucal diferenciada, la prehensión tiene lugar á favor del constante movimiento de las pestañas y flagelos. Estos apéndices determinan corrientes en el líquido ambiente y conducen al orificio bucal las partículas orgánicas en suspensión.

Absorción.—Las células fijas ó sedentarias constitutivas de los organismos superiores no necesitan consagrarse, como los amibos, á la pesquisa del alimento; gracias á la división del trabajo y á la subordinación maravillosa que reina en la máquina viviente, la pre-

hensión, selección y disolución de las materias nutritivas corre á cargo de ciertos tejidos complejos (fibras musculares, epitelio, glándulas del intestino, etc.), cuyo trabajo mancomunado dá como resultante final la creación, entre los corpúsculos de los tejidos asociados, de una atmósfera nutritiva, de composición casi constante y singularmente adecuada, cuantitativa y cualitativamente, á la reparación de los gastos celulares. Como el material nutritivo llega en estado de disolución, penetra fácilmente en el protoplasma, que no necesita sino elegir y fijar en sí propio los elementos de su peculiar constitución.

Que la incorporación alimenticia va precedida de un acto selectivo, pruébalo el hecho bien conocido de resistir las células durante su vida la acción de muchas substancias colorantes disueltas. Así, Brand, Henneguy, Butschli, etc., han observado que los protózoos absorben determinadas materias colorantes al paso que rechazan otras. El azul de metileno tiñe en vida las células vegetales y muchas animales, mientras el carmín de índigo, inyectado en la sangre viva, pasa á la bilis sin teñir las células hepáticas (Chronczonczeuski). En cambio, como Heidenhain ha demostrado, este mismo agente colora en vida los núcleos del epitelio renal. Quizás esta singular resistencia química explique, por qué ciertos venenos y ponzoñas (curare, veneno de ciertos reptiles), así como determinados líquidos digestivos y excrementicios (jugo gástrico en el estómago, bilis en el intestino, orina en la vegiga, etc.), ni sean apenas absorbidos, ni dañen al epitelio con el que se mantienen en contacto. Parece indudable, como indica Kölliker, que, aparte la selección celular, influya notablemente en la intensidad del proceso asimilativo la tensión sanguínea local y la acción del sistema nervioso.

Cuando, como sucede en los rizópodos, infusorios y leucocitos, el alimento engullido es sólido, y consiste, ora en partículas orgánicas, ora en presas vivas ó muertas (bacterias, diatomeas, glóbulos, etc.), la absorción es precedida de una verdadera digestión intracelular, á cuyo fin, el protoplasma segrega, á la manera de las glándulas digestivas, verdaderos fermentos. La actividad digestiva de los leucocitos y células conjuntivas, ha sido bien estudiada por Metchinikoff, quien la designa con el nombre de *fagocitosis,* elevándola á la dignidad de un proceso fisiológico de defensa contra las

invasiones intraorgánicas de parásitos y demás cuerpos extraños. Así, las bacterias englobadas en el protoplasma de los leucocitos, no tardan en perder su movilidad y fecundidad, dejan de teñirse por las anilinas, y son, finalmente, destruídas y disueltas en el yugo celular. Con todo, la fagocitosis, no siempre es fatal para los microbios; algunos de éstos, los de la lepra por ejemplo, viven y prosperan en el espesor de los fagocitos defensores, tan bien y acaso mejor que en los plasmas interorgánicos.

La fagocitosis juega un papel importante en los procesos de atrofia y reabsorción de tejidos embrionarios y larvares (desaparición de la cola de las larvas de rana, reabsorción vascular del epiplon del conejo, destrucción de una parte del hueso embrionario, etcétera). Y si hemos de creer á Klebs, Ziegler, Ballance y otros anátomo-patólogos, la misma regeneración de los tejidos sería influída por la fagocitosis. Así, las células embrionarias del tejido conectivo de las heridas en curso de reparación, engullirían los leucocitos extravasados, y digerirían la cromatina nuclear con el fin de activar la proliferación kariokinética.

Asimilación.—Toda célula, aliméntese ó no en un medio nutritivo líquido, necesita transformar las substancias absorbidas en materiales de la composición protoplasmática y nuclear. El protoplasma en presencia de ciertos cuerpos albuminoides, y quizás aprovechando al efecto determinados fermentos, engendraría la plastina, pirenina, nucleina, etc., principios que no se hallan en el medio circulatorio, y deben por consecuencia, estimarse como síntesis químicas realizadas por el protoplasma y el núcleo.

Viene después el acto más interesante, pero también el más enigmático de la vida vegetativa: la *asimilación*, es decir, la incorporación á la máquina celular viva de materiales inertes é inorganizados. Se trata, pues, de un fenómeno de vivificación, de transformación de lo muerto en vivo. El hecho de que cada factor celular atraiga el material que necesita para su renovación, se debe verosímilmente al juego de la afinidad química, operando en condiciones y modalidades actualmente indeterminadas.

Crecimiento.—Cuando la asimilación compensa exactamente el desgaste acarreado por la actividad celular, la masa protoplasmática mantiene su tamaño; pero cuando lo incorporado supera á lo des-

asimilado, el volumen celular aumenta, y de manera subordinada, y á favor de conflictos mecánicos con el medio circundante, cambia también la morfología exterior de los elementos.

Toda célula, nace por lo común pequeña, y crece sucesivamente, hasta duplicar ó triplicar su volumen originario; tal sucede con muchos elementos epiteliales de la piel, con las fibras musculares y con las células nerviosas, cartilaginosas, adiposas, óvulo, etc.

El crecimiento es uniforme en el óvulo, el cual conserva siempre su forma esférica; pero á menudo, el aumento es *unilateral,* como acontece en las células epiteliales prismáticas, ó *bilateral,* de lo que son buenos ejemplos las fibras musculares lisas y estriadas. Hay corpúsculos como los nerviosos, en que el crecimiento tiene lugar solamente en el extremo de ciertos apéndices (expansiones nerviosas y protoplásmicas).

Se conocen asímismo corpúsculos, quienes en vez de aumentar conforme envejecen, disminuyen sensiblemente de tamaño. Ocurre este fenómeno en las esferas de segmentación del óvulo, en las células del hueso, los hematíes de la sangre, los zoospermos, etc.

Desasimilación.—Es el acto, en cuya virtud, una parte de los materiales constructores de la célula, recobran su libertad química constituyendo productos de excreción y secreción. En general, y aunque la esencia del fenómeno es desconocida, cabe congeturar que la desasimilación tiene lugar mediante una oxidación de los principios integrantes de la máquina celular.

Secreciones y excreciones.—Las substancias eliminadas de la célula, son de dos especies: materias amorfas ó granulosas, que después de acumularse en el protoplasma, se vierten en una superficie libre inmediata, para ser nuevamente aprovechadas por el organismo; y materias líquidas ó semilíquidas, destinadas á eliminarse por ser incompatibles con el mantenimiento de la vida celular.

Las substancias de la primera especie son elaboradas por los corpúsculos de las glándulas, y toman el nombre de *secreciones.* Sirvan de ejemplo: las células de la glándula mamaria y sebáceas, donde se engendran gotas grasientas; las células de las glándulas tubulosas del estómago, donde se producen pepsina y ácido clorhídrico; los corpúsculos hepáticos, donde se elabora substancia glicógena y materia colorante biliar, etc. La eyección del material segregado,

ocurre unas veces sin ruptura ni destrucción del protoplasma (células pépsicas, salivales, pancreáticas, etc.); otras tiene por condición la disolución y eliminación de la misma célula secretora (células mamarias, sebáceas, etc.)

Las substancias de la segunda especie toman el nombre de *excreciones;* provienen de todos los elementos histológicos y representan el conjunto de los materiales de desgaste y de desecho de la vida celular.

La mayor parte de estos productos de desasimilación son vertidos en estado de disolución en los espacios intercelulares, de donde son recogidos por los vasos y finalmente eliminados por las glándulas excrementicias (hígado, riñón, sudoríparas, etc.)

Pero una buena porción de las excreciones de las células del tejido conjuntivo (en sus distintas modalidades) pasan rápidamente al estado sólido, y no pudiendo, en consecuencia, eliminarse, se acumulan sucesivamente alrededor de la membrana celular, originando lo que se conoce con la designación de *substancias amorfas ó intercelulares.*

Las *materias amorfas ó fundamentales* son abundantísimas en los tejidos óseo, cartilaginoso, conjuntivo, adiposo y dentario; y unas veces por su consistencia, otras por su elasticidad, no pocas por sus especiales propiedades químicas, desempeñan un papel muy importante en el organismo. A estos materiales intercalares se deben principalmente el crecimiento, durante el desarrollo embrionario, de los tejidos y órganos, la peculiar composición química del plasma interorgánico (cuya filtración á través de las materias amorfas debe modificar en algo sus propiedades nutritivas) y la configuración macroscópica de los órganos y aparatos.

Declinación y muerte de las células.—Las células como los organismos recorren los períodos de infancia, virilidad y decrepitud, sucumbiendo por fin á consecuencia de trastornos anatómicos incompatibles con el ejercicio de las actividades fisiológicas. La muerte en la célula no es pues algo espontáneo y esencial; es siempre resultado de una lesión, de una verdadera enfermedad protoplasmática ó nuclear, suscitada, en último término, por oscilaciones demasiado intensas en la composición química y dinámica del medio.

La longevidad de las células es sumamente variable en cada especie histológica; y, con algunas restricciones, puede afirmarse que guarda

proporción con la dignidad de la función que desempeñan. Hay elementos cuya vida apenas dura algunos días, como por ejemplo: los epiteliales de la piel y de algunas glándulas, cuyas constantes bajas son reparadas contínuamente mediante la proliferación de los elementos más profundos; mientras que las células musculares, cartilaginosas y conjuntivas, etc., pueden subsistir algunos años. Los corpúsculos indudablemente más longevos, son los nerviosos del cerebro, médula y gánglios, si es cierto, como resulta de varias observaciones, que viven tanto como el organismo, sin degenerar ni proliferar en condiciones fisiológicas.

La muerte individual ó del organismo como unidad viviente, resulta de la muerte de los corpúsculos nerviosos. Pero como entre las células asociadas en la construcción del organismo no todas son tan exigentes en punto á condiciones nutritivas como las nerviosas, resulta, que la muerte de éstas no acarrea forzosamente la cesación inmediata de la vida de los demás elementos. Hay corpúsculos como los musculares, los conectivos, los leucocitos (en general, los más autónomos y menos diferenciados), capaces de subsistir algunas horas después de la muerte del todo. Semejante persistencia de la vida local, es mucho más acentuada en los animales de sangre fría que en los de sangre caliente. La vida de las partes es tanto más independiente de la del todo, cuanto menores ventajas obtiene cada célula de la división del trabajo y de la centralización nerviosa, y en proporción al grado de simplicidad de las condiciones determinantes de la actividad protoplasmática.

El *modo de muerte* celular es variable. Casi siempre se realiza por sobrecarga de materiales extraños, ora grasientos, ora proteicos, ora calcáreos, de lo que son buen testimonio: las células de las glándulas sebáceas y mamarias, que son invadidas por la grasa; los corpúsculos epidérmicos, que se sobrecargan de eleidina y keratina; los elementos nerviosos, que sucumben por consecuencia de precipitados calcáreos y grasientos, etc. En algún caso, la muerte sobreviene por consecuencia de la destrucción ó eliminación del núcleo (hematíes y plaquetas de la sangre de los mamíferos). Finalmente, en ocasiones, ocurre por una suerte de disolución en líquidos circundantes (óvulo no fecundado, zoospermos, células granulosas de la vesícula de Graaf, etc.)

La *remoción del cadáver* celular tiene lugar, ora por descamación ó desprendimiento en una superficie libre inmediata (epitelios pavimentosos, células del pelo, uña, endotelios, etc.); ora á beneficio de *fagocitosis,* es decir, que el cuerpo celular, fragmentado ó nó, es engullido por leucocitos, y llevado al bazo, á la médula ósea, etc., para ser quizás aprovechado en la fabricación de materias nutritivas ó para ser arrojado á las superficies libres de las mucosas, donde, con tanta frecuencia, se encuentran leucocitos emigrados.

Mucho antes de su muerte, la célula exhibe inequívocas muestras de enfermedad ó de vejez. Además de la presencia de cuerpos extraños, nótase la disminución en la cantidad de protoplasma, así como la alteración de su refringencia. El núcleo, unas veces se torna más pequeño y se fragmenta en menudos trozos que se esparcen por el cuerpo celular; otras, pierde paulatinamente su cromatina, conservándose indiferente, en presencia de los agentes tintóreos de la nucleina (células cartilaginosas caducas en los parajes donde se inicia la osificación); y, en fin, en ciertos casos, se hializa y endurece sucesivamente, perdiendo su extructura (núcleo de las células del cristalino, el de los corpúsculos óseos, etc.)

Las causas provocadoras de tales cambios extructurales y determinantes, por tanto, de la muerte total ó parcial del organismo, son desconocidas; su inquisición y determinación constituye sin disputa el problema más árduo y trascendental de la biología. Difícil es resolver por qué se vive, pero aún parece más árduo, dados los recursos que la vida posee para persistir, el averiguar por qué se muere.

Para responder al desgaste funcional contínuo que las células experimentan, así como para ocurrir á los contínuos desmembramientos determinados por los conflictos perennes con el medio exterior, el organismo tiene dos medios á cual más poderoso y eficaz: la *renovación nutritiva* y la *regeneración celular*. Mediante la primera, se mantiene la masa y extructura de las células á despecho de sus contínuos desgastes; merced á la segunda, todo corpúsculo inutilizado por accidente ó por fatalidad evolutiva, es rápidamente reemplazado por otro de la misma raza y de la misma aptitud funcional. Y sin embargo, en cierta época de la vida, sin que pueda esclarecerse la causa, el movimiento regenerativo desciende, quedando insustituídos muchos corpúsculos aniquilados, y la renova-

ción nutritiva resulta impotente para reparar las pérdidas, ó eliminar los depósitos que células tan importantes como las nerviosas y musculares, sufren en el ejercicio de sus elevadas actividades.

Bajo este punto de vista, los animales y vegetales inferiores, particularmente los monocelulares, están mucho mejor dotados que los superiores. El poder de renovación nutritiva se mantiene indefidamente en el amibo, el infusorio, la bacteria, etc., con tal que la composición alimenticia del medio no sufra grandes cambios. Gracias á semejante ventaja, dichos elementos proliferan indefinidamente sin experimentar decadencia alguna. La muerte representa en ellos, no el cumplimiento de una ley ineludible, sino un accidente fortuíto, ya que no cabe estimar como muerte el acto de la división celular, donde en vez de cadáver se produce una multiplicación de vida. El fenómeno regenerativo, en cuya virtud los elementos viejos son reemplazados sucesivamente por otros más jóvenes, alcanza mucha más intensidad en los seres inferiores que en los superiores, cabiendo decir que el poder de restauración de tejidos y órganos está en razón inversa de la perfección de la máquina viviente (1).

(1) Recientemente, algunos naturalistas filósofos se han dado á inquirir las causas de la muerte. Todos convienen en que la muerte ha aparecido en los organismos, en el tránsito del monocelularismo al pluricelularismo, y que bajo cierto aspecto, la cesación de la vida, una vez asegurada la procreación, constituye una necesidad económica de la naturaleza y representa un signo de progreso. La naturaleza se preocupa, no del individuo, sino de la especie; mantener los individuos sería dificultar la obra de progreso, encomendada no sólo á las actuales, sino á las futuras organizaciones; seria enconar excesivamente la lucha entre el *statu quo,* representado por la vejez, y la idea progresiva, simbolizada principalmente en la juventud perpétuamente renovada.

Según Weisman *(Ueber die Dauer des Lebens,* 1881, y *Ueber Leben und Tod,* Jena, 1884), la muerte seria consecuencia de la acomodación y de la división del trabajo. En cuanto aparecieron organismos compuestos de *células propagadoras* (óvulos y zoospermos) y de *células somáticas* (células de tejidos), estas últimas debieron perder su condición de gérmenes, y por consiguiente la virtud de la inmortalidad. Todo animal ó vegetal pluricelular consta de una parte *inmortal* que pasa de padres á hijos en forma y en substancia (el óvulo y zoospermo), y de otra parte *mortal* que solo mantiene su actividad y poder proliferativo durante un cierto plazo (células de tejido ó somáticas). Esta diferenciación representa un progreso, pues que á consecuencia del abandono á ciertos corpúsculos propagadores de la función conservadora de la especie, los demás elementos ó células somáticas pueden realizar un trabajo funcional mucho más elevado y mantener durante más tiempo la vida individual. La muerte ha sido, por consecuencia, impuesta á la vida por utilidad, por necesidad de progreso.

Según Götte *(Ueber Ursprung des Todes,* 1883), el fenómeno de la muerte no obedece á un fin utilitario, sino que es mera consecuencia de la reproducción. Hay muchos animales que se desarrollan exclusivamente para la procreación, ocurrida la cual sucumben inmediatamente. Así en las *ortonectidas* (metazoarios compuestos solamente de un entodermo y un ectodermo), durante cierto período de su evolución, toda la membrana interior se transforma en óvulos y zoospermos; y ocu-

Acción del núcleo en la vida celular.—La célula no subsiste sino á condición de contener núcleo y protoplasma. El núcleo aislado, como el protoplasma solo, son incapaces de vivir, ni de restaurar el factor ausente. Si, á ejemplo de Nussbaum, se corta en fragmentos un infusorio (el *gastrostyla vorax,* etc.), el trozo que contenga el núcleo, conservará la vida y regenerará lo que falta; mientras que los pedazos anucleares, aun cuando capaces de moverse algún tiempo, no tardan en morir.

El núcleo parece ejercer también una influencia directa en las funciones del protoplasma. De las experiencias de Schmidt, Klebs, Balbiani, etc., resulta que solamente los fragmentos de infusorio provistos de núcleo, son susceptibles de segregar la membrana celular. Haberland, ha demostrado, que en las células de los pelos de la *Bryonia dioica,* la membrana celular se espesa exclusivamente en los parajes situados enfrente de los núcleos.

rrida la fecundación el animal muere, rompiéndose el ectodermo ó membrana exterior y quedando en libertad los gérmenes. En los protozoarios, en vez de formarse el germen de una parte de su substancia, se forma de toda.

CAPÍTULO VIII.

GENERACIÓN CELULAR.

1.—**Consideraciones generales.** La producción de nuevas células ocurre cuando el protoplasma, todavía joven, ha llegado á adquirir, á favor de una larga irritación nutritiva, robustez y volumen considerable. Aquí, como en los organismos superiores, la vida no se dá sino cuando la vida sobra. Las células viejas, enanas, trabajadas por las infiltraciones grasienta, calcárea, etc., no son susceptibles de funciones generativas, al menos fisiológicamente.

Una de las condiciones del acto generativo parece ser el exceso de crecimiento del protoplasma. Cuando la asimilación predomina sobre la desasimilación, la célula aumenta de volumen; mas llega un instante en que la fuerza de individualización que mantiene unidas las partes vivas del elemento orgánico, no puede abarcar toda la masa asimilada; entonces la mitad de la célula rompe los lazos de la atracción y constituye un centro aparte.

El mecanismo más general de la producción de nuevas células es la partición ó segmentación. Todas las variedades de neoformación celular son reductibles en último análisis á un fenómeno de división más ó menos complicada, en la cual el protoplasma y núcleo neoformados dimanan siempre de un protoplasma y un núcleo preexistentes.

En el acto generativo, toda la materia del corpúsculo en división pasa á formar el cuerpo de las células producidas; la célula progenitora desaparece como individuo; de lo que resulta que no hay células madres ni células hijas en el estricto sentido de los términos, sino fases de continuidad y diferenciación de un solo protoplasma que comienza en el óvulo por la fusión de dos elementos sexuales, y crece y se fracciona poblando todo el organismo.

El protoplasma y núcleo, *substractum* fisiológico del sér viviente, gozan de una cierta inmortalidad y de una juventud y lozanía perpétuas, puesto que no se destruye al remate de la vida individual de una célula, sino que pasa de los elementos padres á los elementos hijos, viviendo y rejuveneciéndose en ellos hasta las últimas formaciones del organismo. Cierto es que durante la vida del animal, como condición necesaria del ejercicio de muchas funciones, las células perecen á millares y, no lo es menos, que, ocurrida la muerte del sér ó entidad colectiva, sucumben también las células que lo integran; pero nótese que no todo el protoplasma se destruye, sino pedazos de él, pues merced á las células óvulo-zoospérmicas, su duración vital queda indefinidamente asegurada. En realidad, la destrucción de uno ó muchos elementos orgánicos, supone para la vida del protoplasma total del sér, lo que la desasimilación de una partícula albuminoide en la vida de una célula.

2.—**Formas generales de la génesis celular.** Dos procederes generales emplea la naturaleza en la construcción de las células, á saber: *la división* y *la conjugación,* ó en otros términos, formación celular por excisión de una célula preexistente, y formación por conjunción y fusión de dos elementos anteriores.

Este último proceder es patrimonio exclusivo de las células ovulares de los dos reinos; pero el primero es general á todos los elementos anatómicos.

La división celular comprende dos formas principales: *la segmentación directa* y *la indirecta* ó *kariokinética.* Llámase segmentación simple ó *directa* á la división de la célula no precedida ni acompañada de modificaciones en la textura del núcleo; y se conoce con la designación segmentación *indirecta* ó *kariokinesis* á la división celular precedida de curiosas alteraciones extructurales del núcleo, (segmentación del glomérulo, formación de estrellas polares, etc.)

Segmentación directa.

La división celular directa consiste esencialmente en una partición iniciada por el nucleolo, secundada por el núcleo y terminada por el protoplasma.

La segmentación directa comprende cuatro modalidades: *división endógena, fisiparidad, gemmación* y *formación libre.* Las dos pri-

meras son formas de segmentación total, y las dos últimas de división parcial; ó en otros términos, los elementos neoformados á consecuencia de la segmentación, son de tamaño igual en las dos primeras variedades, y desigual en las dos últimas.

1.—**Segmentación endógena y fisiparidad.** Cuando la división es total y recae en células provistas de cubierta, la segmentación se llama endógena, y se conoce con el nombre de generación fisípara ó simple segmentación, la que tiene lugar en células sin membrana aislable. Por lo demás, el proceso de la división es exactamente igual en las dos formas, sin otra diferencia que, en la formación endógena, las células hijas se ven obligadas, á consecuencia de la no ruptura de la cubierta, á permanecer juntas cierto tiempo, y en la simple fisiparidad los elementos hijos se separan tan luego como se ha terminado la escisión. Como ésta es úna insignificante diferencia que no atañe á lo fundamental del proceso de la división, ambas formas genéricas serán comprendidas en una sola descripción.

La *segmentación simple y endógena* es observable en casi todos los tejidos, tanto animales como vegetales; pero nos engañaríamos mucho si pensáramos que todas las masas orgánicas son igualmente buenas para el estudio del proceso. El tejido más apropiado al examen será aquel en que concurran las tres siguientes condiciones: 1.ª, producción contínua de células; 2.ª, nutrición lenta á fin de que el ciclo de la partición abarque mucho tiempo; y 3.ª, fijeza en los elementos para poder observar *in situ* todas sus diversas fases. Ahora bien, estas tres condiciones concurren en el cartílago y en los epitelios. Por eso han sido siempre preferidos estos tejidos para la demostración de la división celular; aunque á decir verdad, también ésta puede demostrarse en partes menos favorables, con tal de que el movimiento proliferativo sea activísimo, por ejemplo: en el óvulo fecundado, las neoplasias patológicas, los ovarios de las plantas, y todos los tejidos de las larvas de insectos y batrácios.

Como es muy difícil observar *de visu* en los tejidos vivos la división de las células, los histólogos han recurrido á un método indirecto, usado con gran éxito por los zoólogos y embriólogos en la demostración de la filiación de los órganos y de las especies. Consiste en deducir las fases recorridas en

la evolución de una parte por el examen y comparación de todas las formas de transición que se descubren en las partes de igual naturaleza. Así, por ejemplo, si al examinar un corte de tejido epitelial, advertimos que las células se enlazan entre sí por suaves gradaciones de escisión, deduciremos que cada elemento de los observados pasa, durante su ciclo proliferativo, por todas las fases genésicas esparcidas en los demás.

Aplicando este método de indagación en el tejido cartilaginoso, podremos fácilmente inferir que la célula de este tejido recorre en su proceso de multiplicación las siguientes fases.

1.° *Periodo de reposo.*—El núcleo de las células cartilaginosas que no están en vías de proliferación, es pequeño y su armazón cromático es irregular, discontinuo, ofreciendo tres ó más abultamientos, que son los falsos nucleolos (fig. 40, 1). 2.° *Reducción de*

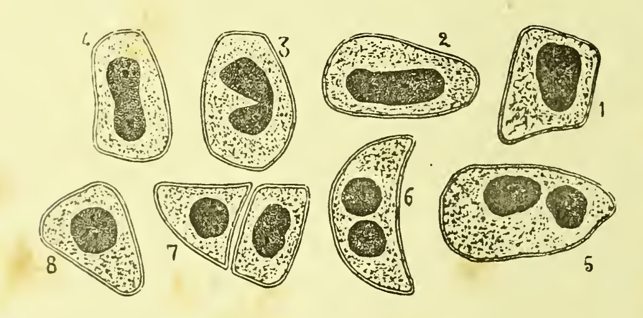


Fig. 40.—Segmentación de las células cartilaginosas de la cabeza del fémur de la rana. Fases halladas en varias preparaciones. Ácido ósmico y alcohol.—Hematoxilina.—Glicerina. 1.—Núcleo en descanso; 2, 3 y 4 núcleos alargados; 5 y 6 bipartición del núcleo; 7, partición celular y secreción de cubierta; 8, célula hija en descanso.

los falsos nucleolos.—Todos los nódulos cromáticos del núcleo se reducen á dos nucleolos bastante voluminosos, continuados con el resto del glomérulo y colocados cerca de los extremos del núcleo. Este aumenta de tamaño y se alarga ligeramente. 3.° *Partición del núcleo.*—En la parte ecuatorial de este órgano alargado prodúcese una estrangulación regular, bilateral unas veces (4), unilateral otras (3), concluyendo por romperse en dos pedazos. Las fases progresivas de la estrangulación nuclear son escasísimas en las preparaciones del cartílago, lo cual parece indicar que la división del

núcleo se ejecuta muy rápidamente. Cada uno de los núcleos engendrados arrastra consigo un nucleolo falso ó pedazo grueso de cromatina. La situación de los núcleos dentro de la célula varía mucho; al principio están muy próximos y situados en una misma dirección (6); más adelante pueden variar, no sólo de orientación, sino de forma (5). 4.º *División del protoplasma.*—El cuerpo celular, muy aumentado de volumen, se escinde ahora según un plano ecuatorial intermediario á los núcleos. Las fases varias por que esta división atraviesa no pueden descubrirse en las mejores preparaciones, así que es muy probable que la segmentación del protoplasma, se realice de una vez y sin estrangulación preliminar. 5.º *Producción de la membrana.*—Durante todo este proceso la membrana celular no ha sufrido ninguna modificación, y las células hijas albergadas en su cavidad se hallan en contacto recíproco por una faceta plana. Mas no tarda cada protoplasma nuevo en construirse una cubierta especial, á cuyo sucesivo engrosamiento es debida la separación de las células neoformadas (7). Pero por mucha que sea la materia fundamental interpuesta, la persistencia de una faceta plana ó cóncava en el lado del cuerpo protoplasmático correspondiente al plano de segmentación, revelará siempre el parentesco de las células. Entre tanto, la membrana de la célula madre no se rompe, sino que pasa con las membranas hijas á formar la materia fundamental del cartílago.

2.—**Gemmación.** Hemos visto que en las formas anteriores la segmentación es total, originándose dos células iguales. Pero puede ocurrir alguna vez que el núcleo y el protoplasma se escindan en dos ó más porciones desiguales. Esta forma se llama *gemmación* ó multiplicación por yemas ó brotes.

A decir verdad, esta forma es sumamente rara en el hombre y vertebrados. Kölliker la observó en las células incoloras del bazo de pequeños mamíferos; Malassez ha visto también fenómenos de gemmación en las células rojas de Neuman de la médula ósea.

Las fases del proceso parecen ser: 1.º, proyección de yemas nucleares, en las que se encuentran todos los factores del núcleo (red cromática, membrana, savia nuclear), excepto el nucleolo que no suele existir en estas células; 2.º pediculación y escisión de los apéndices nucleares, los cuales se alojan en el protoplasma cerca del nú-

cleo principal; 3.º, separación de un trozo de protoplasma celular, el cual arrastra al núcleo neoformado. Las dos primeras fases son de fácil observación en las mieloplaxias, pero debemos confesar que la última no ha podido comprobarse de un modo indudable.

CAPÍTULO IX.

Segmentación celular indirecta.

Este procedimiento de formación celular, llamado *kariokinesis* ó *cinesis,* fué descubierto por Schneider (1) en 1873 y ha sido estudiado principalmente en los grandes núcleos del óvulo y células de las larvas de urodelo. Más tarde, y gracias á los trabajos de Flemming, Strasburger, Fol, van Beneden, Rabl, Carnoy, Pfitzner, etc., se ha comprobado tanto en los vegetales como en los animales, lo mismo en los elementos germinales que en los corpúsculos de tejido. Las investigaciones de muchos anátomo-patólogos han puesto en claro que en los tumores y neoformación inflamatoria, la naturaleza emplea también este mecanismo de división, y hasta no faltan sabios que comienzan á sospechar que los demás procedimientos de generación (segmentación directa, gemmación) no representan otra cosa que fases modificadas de la kariokinesis ó estados especiales de descanso y fragmentación nuclear que se habrían interpretado erróneamente.

Hé aquí las fases de la kariokinesis tales como aparecen en las grandes células de los urodelos (larvas de tritón y salamandra), donde, á causa de las grandes facilidades analíticas, se ha hecho de preferencia el estudio. Nuestras investigaciones, recaídas especialmente en las larvas del *Pleurodeles waltii,* confirman plenamente las de Flemming y Rabl, que serán resumidas en la siguiente descripción.

1.—**Fase de descanso.** Así se llama al estado de la célula en el intérvalo de dos segmentaciones. El núcleo ofrece su estructura nor-

(1) *Schneider:* Untersunchungen ueber Plathelminthen *Jahrbuch. de Oberheissischen gesellsch, f. Naf. u. Heilkunde. 1873.* La designación de *kariokinesis* aplicada al proceso de división nuclear con metamórfosis cromáticas, se debe á Schleicher. (Die Knorpelzelltheilung, etc. *Contralbl. f. die. rud. Wissesch.* Berlin, 1878.)

mal, á saber: membrana acromática, retículum apenas perceptible del armazón cromático, y un corpúsculo esférico tingible por las anilinas, que es el nucleolo. En ciertos casos, es imposible ver, aun con los buenos objetivos, barrunto de reticulación de la cromatina nuclear, que aparece formada por grumos de tamaño desigual colorables por la hematoxilina, zafranina, etc. Probablemente, en los vertebrados, todo núcleo francamente reticulado acusa tendencia á a partición.

2.—**Fase de reticulación.** (Fig. 41, A.) Los gránulos cromá-

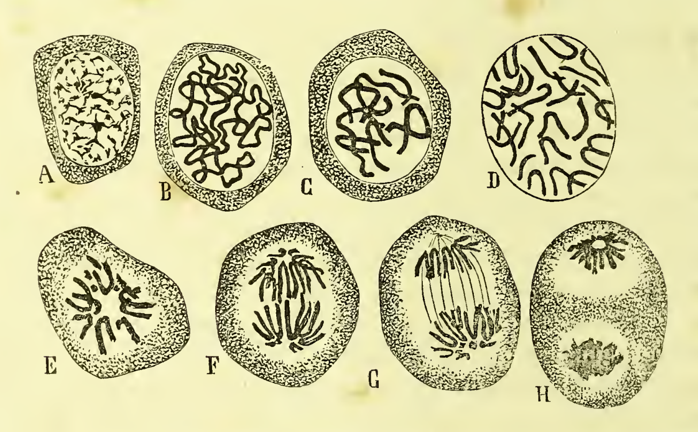


Fig. 41.—Fases de partición kariokinética observadas en el epidermis de las larvas de Salamandra maculosa. Alcohol, hematoxilina y glicerina.

A, Célula en estado de descanso con núcleo reticulado; B, fase glomerular ó del ovillo; C, fase de la segmentación del glomérulo; D, formación de las horquillas (este núcleo pertenece á una célula conjuntiva subcutánea); E, fase de la estrella madre; F, comienzo de la formación de las estrellas hijas; G, estrellas hijas; H, soldadura de las horquillas en el núcleo hijo.

ticos se engruesan en muchos sitios, apareciendo multitud de filamentos divergentes que los enlazan entre sí. Las trabéculas más gruesas están formadas evidentemente de nucleina; las más finas no se tiñen apenas por los reactivos de la cromatina, correspondiendo á los hilos *acromáticos* de Flemming *(secundarios de* Rabl, hilos de *plastina* de Carnoy). El núcleo se conserva al principio, pero al final de esta fase se deforma y estira, pareciendo continuarse con la reticulación general.

3.—**Fase del ovillo glomérulo denso.** (Fig. 41, B.) Todas las

partes cromáticas de la citada red se anastomosan, mientras que las acromáticas desaparecen; por manera que viene á engendrarse un hilo contínuo sumamente largo y flexuoso, cuyos recodos aparecen al microscopio como puntos brillantes. Los restos del nucleolo se disipan; se diría que su materia es aprovechada en la construcción del filamento apelotonado. En algunos núcleos, las vueltas del hilo contínuo ofrecen cierta disposición regular, marchando en zig-zag de un polo á otro del corpúsculo (Rabl).

4.—**Fase del ovillo laxo.** El hilo del ovillo constituye al principio un glomérulo apretado, pero luego, por consecuencia de su enreciamiento y acortamiento, se dispone en pelotón de vueltas laxas y claras, con interposición de mucha cantidad de jugo nuclear transparente.

5.—**Fase de las horquillas.** (Fig. 41, D.) Ahora comienza el primer acto de segmentación. El hilo contínuo se parte, á distancias casi iguales, en trozos que se disponen en horquillas recias de ángulo redondeado. La membrana nuclear se torna pálida, distinguiéndose la región nuclear de la protoplasmática por presentar un aspecto más transparente y menos granuloso.

6.—**Fase de la estrella madre.** Hasta aquí el jugo y parte acromática del núcleo habían permanecido inactivos; pero ahora, y á expensas probablemente de las partes incolorables del retículo de nucleína, se forma una figura pálida llamada *huso acromático,* especie de hacecillo de hilos finísimos curvilíneos y convergentes en dos focos ó polos celulares. Cada foco presenta á menudo un corpúsculo brillante y menudísimo (grano polar), que sirve de punto de inserción á los extremos del huso, al paso que de punto de arranque de otras fibras pálidas irradiadas hacia el protoplasma y continuadas verosímilmente con el *retículum* de éste (fig. 42, d). Para distinguir el huso acromático, es preciso que el corte sea paralelo al eje bipolar. En la fig. 42, c, correspondiente á una vista polar, los hilos del huso no se perciben bien.

En cuanto el huso acromático se forma, las horquillas son atraídas por sus codos hacia la región ecuatorial de aquél, disponiéndose en una estrella de tallos recios terminados periféricamente por cabos libres (fig. 41, E).

Durante la formación del huso acromático y orientación conver-

gente de las horquillas, la membrana nuclear desaparece por completo, continuándose, por suaves transiciones de aspecto granuloso, la región central y la periférica.

Hay casos en que la membrana se conserva hasta las fases siguientes: Kölliker la ha visto permanecer hasta el estadío de *estrella hija* en los núcleos musculares del *Sideron,* observación análoga á la referida por Carnoy de los núcleos de los artrópodos. Pfitzner, tratando con ácido ósmico las figuras kariokinéticas, distinguió también una cubierta en las fases de estrella madre y metakinesis. Pero éstos deben reputarse casos excepcionales.

7.—**Fase de la segmentación longitudinal.** (Fig. 42, d, e.) Este curioso fenómeno, descubierto por Flemming, es de grande importancia en el mecanismo de la división celular, y parece tener por fin repartir toda la cromatina nuclear en dos porciones iguales, tanto cuantitativa como morfológicamente. El fenómeno se inicia por un hendimiento de los extremos de las horquillas, que se corre luego hasta el ángulo central, dando por resultado la formación de dos series de filamentos cromáticos, la mitad más pequeños que los anteriores. Al principio, las dobles horquillas conservan su posición (fig. 42 e), pero luego los codos de cada serie transversal son atraídos por los focos polares del huso, desprendiéndose de su yacimiento y apartándose cada vez más.

Según Pfitzner, Balbiani, etc., cada hilo de la estrella madre, visto á grandes aumentos, aparece formado por una serie de esférulas cromáticas sumergidas en una ganga de unión incolorable. Al ocurrir la escisión longitudinal de las horquillas, cada esfera constituye dos más pequeñitas, rajándose también á lo largo la materia unitiva longitudinal. (Fig. 43.)

8.—**Fase de placa ecuatorial ó metakinesis.** En este estadío las dos series de horquillas se han separado por sus codos, deslizándose á lo largo de los hilos del huso; pero todavía se tocan, y se entrecruzan por el ecuador (fig. 42, f). En adelante las fases serán reproducción inversa de las anteriores, pues la metakinesis representa la cúspide de la curva de desviación estructural.

Ciertos autores creen (Beneden, Rabl, Boberi) que el huso acromático se escinde ecuatorialmente, al mismo tiempo que los lazos de la estrella madre, y que los hilos rotos adheridos á las horquillas

tirarían de éstas hacia los polos. En sentir de Waldeyer, hasta el mismo jugo nuclear transparente se dividiría en dos mitades, á fin de que nada faltase en los elementos hijos de las substancias y estructuras de los progenitores.

En cuanto al origen de los filamentos del huso acromático, los

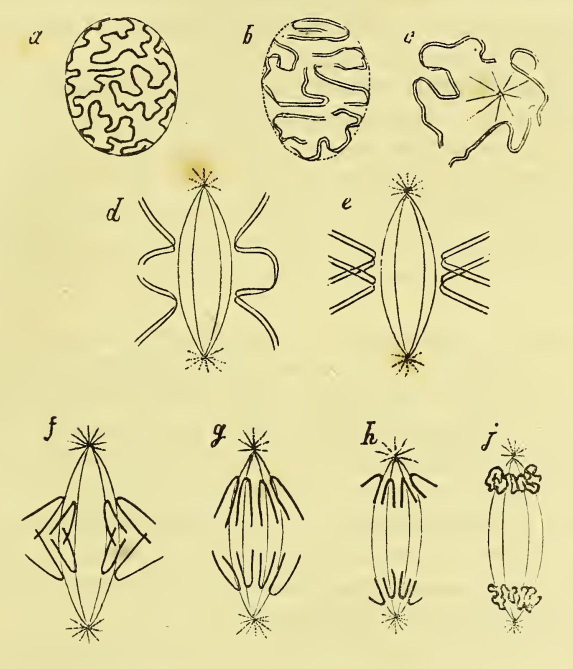


Fig. 42.—Esquema de la kariokinesis en las células epiteliales de la Salamandra (Flemming). a, Forma glomerular (Knauelform); b, la misma con segmentación transversal y longitudinal de los hilos cromáticos; c, comienzo de la formación de la estrella madre (vista polar); d y e, estrella madre con segmentación longitudinal de los hilos (vista ecuatorial, donde se observan ya los hilos y polos acromáticos); f, metakinesis ó placa ecuatorial; g y h, estrellas hijas; j, glomérulo hijo.

autores se inclinan á pensar que se forman de la materia nuclear, quizás á expensas de los hilos pálidos que en ella han descrito Flemming, Carnoy y Rabl; no obstante, Strasburger, es del parecer que se engendran á expensas del protoplasma.

9.—**Fase de las estrellas hijas.** Las horquillas se aproximan

cada vez más á los polos, dejando libre la región ecuatorial, en la cual surgen ahora unos filamentos acromáticos pálidos (*fibras de unión* de V. Beneden) que parecen juntar los cabos libres de las horquillas (fig. 44, 8). Ciertos autores consideran las fibrillas pálidas como la región ecuatorial del huso, que la emigración de las horquillas pondría al descubierto; pero la continuidad con los elementos cromáticos parece indicar que tales hebras son dependencia de éstos (Kölliker, Van Beneden).

10.—**Fase del ovillo hijo.** En torno de cada estrella de nueva formación surge una membrana nuclear. El huso desaparece, así como los granos polares, y los cabos de las horquillas se anastomosan, constituyendo un glomérulo apretado de hilo contínuo. Casi siempre las vueltas del hilo van en zig-zag de la cara ecuatorial á la polar del núcleo, recordando aún la disposición de las horquillas de la estrella. La región ecuatorial del protoplasma comienza á seccionarse.

11.—**Fase de reticulación.** Durante esta fase, y á menudo, antes de ella, la extrangulación del protoplasma acrece, y, por fin, la célula se divide en dos mitades (fig. 41, H). La sección protoplasmática es aplanada y corresponde exactamente al plano ecuatorial del huso acromático. Al mismo tiempo, la cromatina nuclear se irregulariza; de la superficie de los trozos cromáticos parten ramificaciones pálidas que se anastomosan entre sí, construyendo una red en que subsisten aún trabéculas cromáticas espesas. Y finalmente, el nucleolo aparece, sin que se sepa cómo, viniendo la célula á las condiciones ya conocidas del período de descanso.

Rabl modifica un tanto la descripción de Flemming (á la que nos hemos atenido preferentemente), añadiendo: 1.° que en la fase de ovillo primitivo, el hilo consta ya de horquillas dirigidas perpendicularmente al eje mayor del núcleo, y de tal modo dispuestas que sus codos rodean un espacio nuclear exento de cromatina (*zona polar);* mientras que sus extremos se entrecruzan y cubren por completo la zona opuesta (*zona antipolar*). 2.° La división longitudinal tendría ya lugar en la fase de las horquillas; durante la cual, en la zona polar mencionada, aparecería un pequeño huso acromático, que va sumergiéndose y creciendo paulatinamente, hasta colocarse transversalmente al eje mayor del núcleo. 3.° Las horquillas están

compuestas, como indicó Pfitzner, de un gran número de granos cromáticos, envueltos en una materia acromática, y cada grano está unido al trayecto de un filamento del huso acromático (véanse las figs. 43 y 44), de suerte que existen tantos hilos acromáticos como gránulos de Pfitzner. En la salamandra, para 24 horquillas, se ven

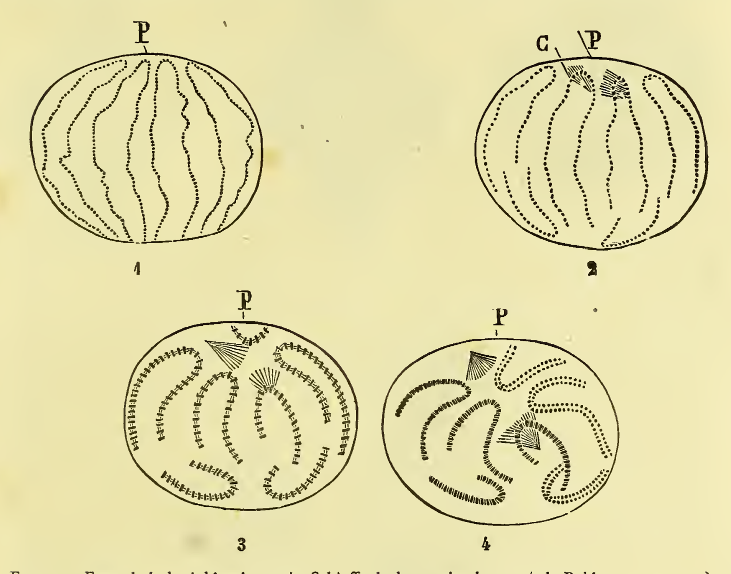


FIG. 43.—Fases de la kariokinesis, según Schiefferdecker, quien las tomó de Rabl.
1, fase de ovillo denso; 2, fase de ovillo flojo en la que aparece un principio de huso acromático en C; 3, se inicia el ensanchamiento de las asas cromáticas; 4, comienza la partición longitudinal de las asas cromáticas (1).

400 ó 500 hilos en la mitad del huso. 4.° Ocurrida la partición de las asas, el huso se dividiría también y cada grano cromático sería atraído hacia el polo más próximo por la contracción de un filamento acromático, etc.

Como expusimos ya en otro capítulo, Rabl sostiene que todo núcleo en estado de reposo, conserva una disposición análoga á la del ovillo que acabamos de exponer. Según este autor, los filamen-

(1) Véase: *Schiefferdecker u. Kossel* Gewebelehre mit besonderer Berucksichtigung des menschlichen Körpers. 2 Band, 1892.

tos nucleares son de dos especies: recios ó *primarios;* delgados ó *secundarios.* Al iniciarse la kariokinesis, los secundarios se reabsorben, quedando el filamento contínuo formado exclusivamente de tra-

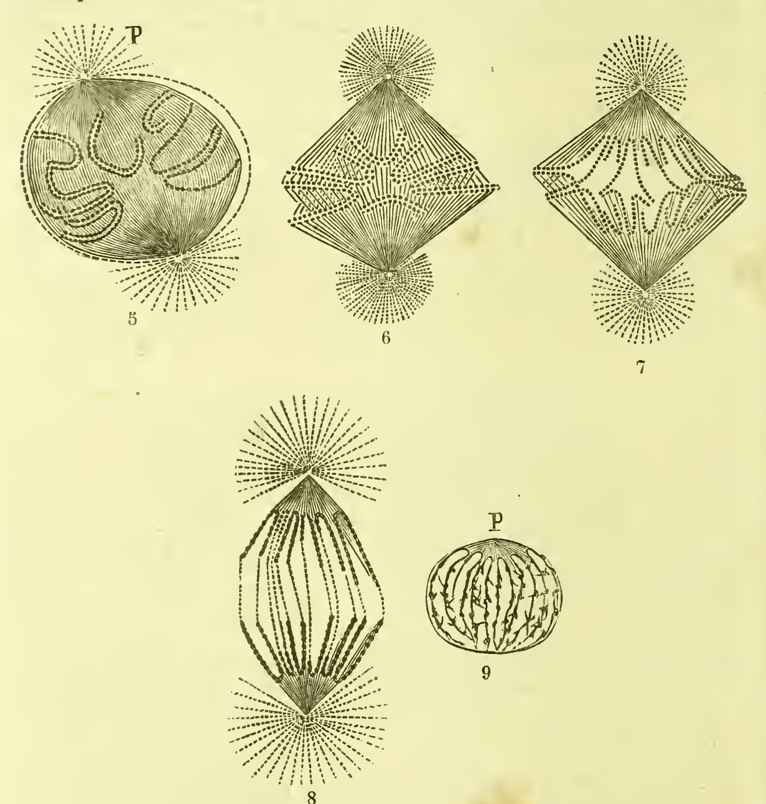


FIG. 44.—Continuación de la figura anterior.—5, formación del huso acromático con sus dos focos polares; 6, fase de estrella madre en que cada grano cromático es separado de su compañero mediante un hilo acromático; 7, dislocación de las asas de partición hacia los polos; 8, fase de estrellas hijas con los filamentos de unión; 9, un ovillo hijo de cuyas asas cromáticas brotan ramificacioves, es decir, los filamentos secundarios.

béculos primarios. Después de la fase del glomérulo hijo, los filamentos secundarios surgen de los primarios, dando al armazón nuclear apariencia reticulada.

La duración de la kariokinesis oscila entre una y cinco horas.

Así, en el hombre, según Flemming, sobrevendría en media hora, mientras que en la salamandra se prolongaría de tres á cinco horas. Parece ser que la kariokinesis continúa efectuándose en los animales de sangre fría todavía algunas horas después de la muerte. En los pelos estaminales de la *Tradescantia virginica* el proceso no duraría más allá de hora y media (Strasburger).

Esferas de atracción y partición en el óvulo fecundado. El descubrimiento de las esferas polares, debido á van Beneden, ha puesto sobre el tapete una cuestión importante. Suponíase con algún fundamento que el primer impulso kariokinético partía del núcleo, órgano que, en sentir de Kölliker y Hertwig, tiene como en depósito los legados de la herencia, en tanto que el protoplasma, puramente pasivo y entregado á funciones puramente vegetativas (Haeckel), participaría en el acto generativo como á remolque y obedeciendo un mandato; pero los modernos estudios dan á entender que el *primum movens* radica en el protoplasma, encarnándose en el corpúsculo polar (que representa una formación protoplasmática), órgano cuya existencia debe ser general, por más que hasta hoy claramente sólo haya sido percibido en los óvulos fecundados de los vermes y otros seres inferiores.

El corpúsculo polar ha sido estudiado primeramente por Beneden y Boberi en el óvulo del *ascaris megalocéfala*. Es de forma esférica y está situada encima del núcleo, ofreciendo una zona granulosa periférica *(esfera atractiva)* y un gránulo central brillante *(centrosoma)*. Cuando va á iniciarse la kariokinesis ordinaria en el núcleo contiguo, el centrosoma se divide así como la esfera atractiva, de lo que resultan dos cuerpecitos que se van apartando, resbalando sobre el núcleo, hasta ocupar posiciones opuestas. (Fig. 45.) Mientras tanto la cromatina nuclear, como influída por los cuerpos polares, entra en kariokinesis, produciéndose el hilo contínuo, su fragmentación transversal y longitudinal, etc. Simultáneamente el corpúsculo polar se rodea de una estrella acromática, parte de la cual penetra en el núcleo, desvanecida ya la membrana, donde constituye el huso acromático. Finalmente, engéndrase el núcleo hijo como en la kariokinesis ordinaria; solamente que al desaparecer el huso, el corpúsculo polar hijo se conserva, aplicándose al núcleo correspondiente en espectativa de nueva partición.

Durante la segmentación del óvulo del *Siredon* ha observado recientemente Kölliker (1889) fenómenos análogos (1). También aquí hay esfera de atracción pegada al núcleo, solo que no se descubre centrosoma. Asimismo, la esfera atractiva se segmenta y cada trozo emigra, situándose en un polo distinto del núcleo. En torno de la esfera, surgen los filamentos radiales acromáticos y el huso que dirige los fenómenos kariokinéticos nucleares. En este momento el centrosoma sería perceptible. Terminada la kariokinesis, la esfera

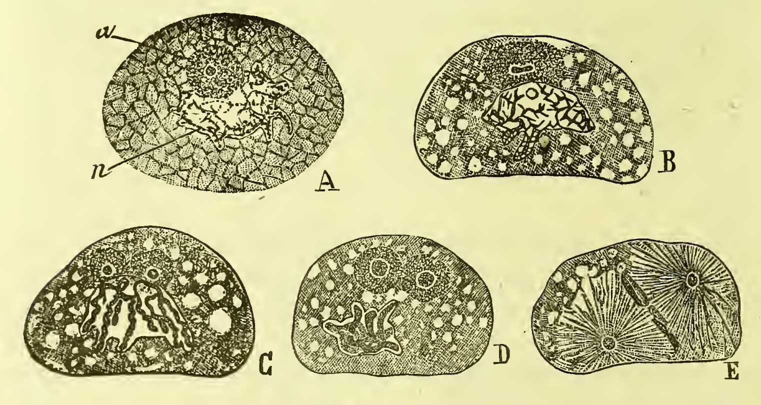


Fig. 45.—Fases de la segmentación kariokinética en las blasfomeras del óvulo del *ascaris megalocefala*. (Tomada de Kölliker, que á su vez la copió de Boberi.)
A. Núcleo en descanso; B, núcleo en ovillo y corpúsculo polar en vías de división; C, corpúsculo polar segmentado; D, comienza la disolución de la membrana nuclear; E, formación de las estrellas acromáticas y fase de estrella madre; a, centrosoma y esfera atractiva.

atractiva ocuparía la misma situación perinuclear. Para Kölliker dicha esfera sería dependencia del protoplasma, así como los hilos más periféricos de la radiación polar; el huso propiamente dicho, así como las fibrillas de unión, resultarían de diferenciaciones nucleares. Fenómenos análogos ha observado Lowenthal en el óvulo de la *Oxyuris ambigua*.

Estos curiosísimos fenómenos, confirmados en gran parte en otros óvulos de animales inferiores por Fol, Heneguy, Flemming, etcétera, han hecho pensar á muchos que quizás la esfera atractiva

(1) *A. Kölliker:* Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6 Anfl. 1889.

exista también en las células de tejido de todos los animales, estando representada en los elementos kariokinéticos de los urodelos, por el grano brillante que constituye los focos del huso acromático. Desgraciadamente, el pequeñísimo diámetro de tal gránulo no consiente ni una determinación clara de su forma y estructura, ni averiguar si preexiste en la célula en descanso y se apoya, como en los núcleos ovulares mencionados, sobre la membrana nuclear.

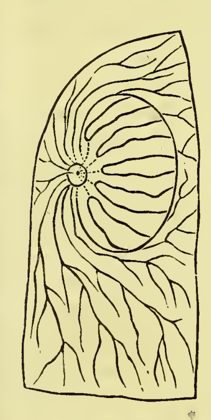


Fig. 46.—Esquema celular de Rabl, que representa el estado del núcleo en descanso y el mecanismo de la partición kariokinética.

A pesar de todo, Rabl se pronuncia por la generalidad de su existencia en todas las células, pudiendo observársele en el tritón, junto al núcleo hijo, una vez acabada la partición. Esta suposición le ha servido de punto de partida á una hipótesis ingeniosa, con la cual pretende explicar, á favor de una contracción del retículo protoplasmático, todo el mecanismo kariokinético. Imagina este autor que el núcleo en descanso tiene una estructura análoga á la representada en la fig. 46. Los hilos primarios ó gruesos aparecen formando horquillas, cuyos codos miran á la zona polar, donde, sobre la membrana, descansa la esferita de atracción. Los ángulos de las horquillas cromáticas únense, mediante hilos pálidos, al gránulo polar, el cual recibe por el lado opuesto la inserción del retículo protoplasmático. En esta suposición, al recibir la célula la acción del estímulo formativo, el retículo protoplasmático se contrae, tirando en dirección opuesta del grano polar. Este se parte en dos, y acto seguido se rajan á lo largo los hilos acromáticos que van á las horquillas, y por último, éstas se escinden también, con lo que, si la tirantez del retículo protoplásmico continúa, se construirán dos focos polares, dos estrellas hijas, etc., etc., explicándose mecánicamente todos los fenómenos kariokinéticos.

Esto, como se supondrá, no es más que una concepción del espíritu; pues, aun cuando sea probable la existencia del corpúsculo polar en las células en descanso, no puede probarse hoy ni la existencia de horquillas más ó menos veladas por hilos secundarios en

los núcleos reposados, ni menos la orientación polar supuesta en la hipótesis de Rabl (1).

Kariokinesis pluripolares y heterotípicas. Strasburger, Flemming, Rabl, Waldstein, etc., comprobaron que en ciertos casos, en vez de repartirse la cromatina en dos estrellas hijas, podían constituirse tres ó un mayor número de éstas, ocurriendo finalmente la formación de varios núcleos hijos. Doenys (2) ha notado este fenómeno de kariokinesis pluripolar en las mieloplaxias de la médula ósea, pudiéndose formar 8 y más figuras nucleares dentro de un solo protoplasma. La partición protoplasmática no sigue necesariamente á la nuclear, de lo que resulta un aumento considerable en el número de núcleos. Cornil (3) confirmó también el proceso en las células epiteliales de ciertos tumores. Arnold, Martín, Gama, etc., han hecho descripciones análogas. Schottländer (4), que ha visto kariokinesis múltiples en la regeneración del epitelio posterior de la córnea, ha notado que se mezclan con el proceder kariokinético ordinario, pareciendo depender del exceso de actividad regenerativa. Nosotros los hemos visto también en las mieloplaxias de la médula ósea y en los elementos gigantes de los sarcomas y de ciertos epiteliomas (cáncer epitelial de la matriz, etc.) En el estadio del ovillo se presenta una cantidad enorme de hilos cortos limitados irregularmente; luego se forma una estrella madre con lobulaciones irregulares; después cada lóbulo de granos cromáticos origina, por incisión longitudinal probablemente, dos series de horquillas, que constituyen en conjunto varias estrellitas hijas, que se apartan luego para transformarse en núcleos independientes. El protoplasma no suele seguir el proceso de segmentación sino muy tardíamente.

Según Flemming, hay kariokinesis atípicas probablemente patológicas. Unas veces el ovillo se presenta más laxo que de ordinario. En otras ocasiones el hilo contínuo dispuesto en zig-zag forma la estrella madre y aun parte de la metakinesis, sin haber ocurrido una división transversal completa. Ejemplos hay en que la incisión longitudinal acaece en la fase de estrella hija, de donde la producción de núcleos secundarios, etc.

Si hemos de creer á Carnoy (5), la kariokinesis es un proceso sumamente

(1) *Rabl;* Ueber Zelltheilung; *Morphologisches Jahrbuch.* Bd. X. 1885, y su trabajo reciente: Ueber Zelltheilung; *Anatomischer Anzeiger.* núm. 1. 1889.

(2) *Dœnys:* La cytodierese des cellules géantes et des petites cellules incolores de la moelle des os. *La Cellule.* T. II, 1886.

(3) *Cornil:* Sur la multiplication des cellules de la moelle des os par division indirecte dans l'inflammation. *Arch. de physiol. norm. et pathol.* T. X. 3e série 1887

(4) Schottländer: Ueber kern u. Zelltheilungsvorgange in dem Endothel der entzundeten Hornhaut, Areh. f. mik, Anat. B. XXXI, 1888.

(5) *Carnoy:* La Cytodiérèse chez les Arthropodes; *La cellule.* T. I. fasc. 2, 1885.

variable, pudiendo manifestarse ya por simple partición transversal sin la longitudinal, ya por una repartición de cromatina en dos porciones semejantes sin figuras cromáticas genuínas. Con todo, pudiera ser que este sabio hubiera sido inducido á generalizar observaciones incompletas; porque los estudios de Flemming, Strasburger, Rabl, etc., demuestran que el fenómeno responde á un plan único y constante, tanto en los animales como en las plantas.

Fragmentación celular según Arnold (1). Este autor admite dos tipos generales de división: 1.º *segmentación,* subdividida en directa y kariokinética; 2.º *fragmentación,* distinguida también en directa é indirecta. La *segmentación* ocurre cuando el núcleo se parte por el plano ecuatorial en dos mitades; mientras que en la *fragmentación* la división nuclear se efectúa en porciones desiguales y según planos diversos.

La *segmentación* directa é indirecta de Arnold corresponde exactamente á los dos modos de división descritos más atrás.

La *fragmentación* directa se confunde también con el proceso de división directa, estudiado por Flemming; pero la *fragmentación indirecta* viene á ser una kariokinesis especial como abortada. Recae este proceso kinético en las mieloplaxias, leucocitos, corpúsculos de los ganglios linfáticos, etc., y se caracteriza por: 1.º Enreciamento de la red cromática y disolución de cromatina en el jugo nuclear. 2.º Desaparición de los trabéculos, que se funden en una masa de cromatina homogénea. 3.º Acumulación de la masa cromática en ciertos parajes con formación de espacios claros. 4.º Desaparición de las partes claras y transformación en núcleos independientes de los bloques cromáticos homogéneos. 5.º Segmentación del protoplasma en tantos trozos como núcleos neoformados.

Este modo kariokinético tan singular ha sido confirmado por Werner, discípulo de Arnold; pero la mayor parte de los autores niegan su realidad, atribuyendo las figuras descritas por este histólogo á alteraciones nucleares *post-mortem* y á la acción de los reactivos. (Dœnys, Cornil, Aoyama, Flemming, Demarbaix).

Iguales reparos pueden hacerse á Cornil, autor que describe otro modo kariokinético irregular en los elementos de la médula ósea inflamada por fractura. La substancia cromática del núcleo se condensaría en gotas é hilos gruesos é irregulares; el núcleo se hincharía adquiriendo forma de judía ó albaricoque; surgiría en la cromatina una red apretada, y finalmente, engen-

(1) *Arnold:* Beobachtungen ueber Kerne, und Kerntheilungen in der Zellen des Kuochenmarkes. *Virch. Arch.* B. XCIII. 1883, y sus: Weitere Beobachtungen ueber Theilungsvörgange an den Knochenmarkzellen u. weisser Blutkörperchen. *Virch. Arch.* Bd. XCVII. 1884.

draríase una placa ecuatorial casi homogénea que, segmentada en dos placas hijas, daría lugar á los núcleos independientes.

Dudoso nos parece también un proceder de escisión protoplasmática endógena señalada por Arnold y Dœnys en las mieloplaxias. Afirman estos sabios que una vez multiplicado el núcleo celular, la porción de protoplasma que inmediatamente rodea los núcleos hijos, se escinde en círculo, aislándose del resto del cuerpo de la mieloplaxia, de suerte que los nuevos corpúsculos yacen por todas partes envueltos en el protoplasma de la célula madre, que los retiene más ó menos tiempo, expulsándolos finalmente por una especie de parto.

Nosotros jamás hemos logrado cerciorarnos de la existencia de células interiores en las mieloplaxias del conejo y rata, pareciéndonos con Lœwit y Demarbaix que si aquellos sabios no han sufrido la equivocación de tomar células superpuestas por elementos endógenos, sus observaciones han debido recaer simplemente sobre células gigantes fagocíticas con leucocitos englobados, interpretación tanto más racional cuanto que en los dibujos publicados por Dœnys, las mieloplaxias con elementos englobados conservan aún el gran núcleo abollado característico de las mismas. Además, prueban las recientes experiencias de Nikiforow y Ballance (1890), que las células gigantes del tejido de granulación carnosa, hacen frecuente presa para su nutrición subsidiaria, de leucocitos y corpúsculos pequeños. Estos corpúsculos interiores se reconocen bien al principio porque conservan sus caracteres, pero no tardan en disolverse y digerirse por el protoplasma fagocítico. Fenómeno análogo debe ocurrir también en la nutrición de las grandes células fisiológicas de la médula del hueso, bazo, etc.

FORMACIÓN CELULAR POR CONJUGACIÓN.

En la división celular el protoplasma y el núcleo se parten para constituir dos ó más elementos: en la conjugación, por lo contrario, dos ó más células se fusionan á fin de construir un sólo corpúsculo, el cual, puesto que es la suma de otros dos, resulta más grande que sus elementos formadores.

Este proceder genético no es común á todos los protoplasmas: la naturaleza lo reserva tan sólo para ciertas células gigantes privilegiadas, los óvulos, elementos padres en cuyo seno y á cuyas expensas se forman todos los elementos histológicos de los animales y plantas pluricelulares. En su primera etapa, la conjugación no multiplica las células, por lo cual este proceder, antes parece des-

tructor que neoformador; pero no tarda la célula así construída, como si una nueva vida se hubiera infundido en ella, en ser teatro de vivísima proliferación.

1.—**Conjugación en las células animales.** Tiene lugar entre dos células: *el óvulo* y *el zoospermo.*

A.—**El óvulo** es un corpúsculo gigante cuando adulto (1 á 2 décimas de milímetro en el hombre y mamíferos), cuya estructura es la de una célula típica. Posee, por tanto, protoplasma, cubierta, núcleo y nucleolo (V. fig. 45).

El protoplasma (a) es una materia amarillenta *(vitellus),* fuerte-

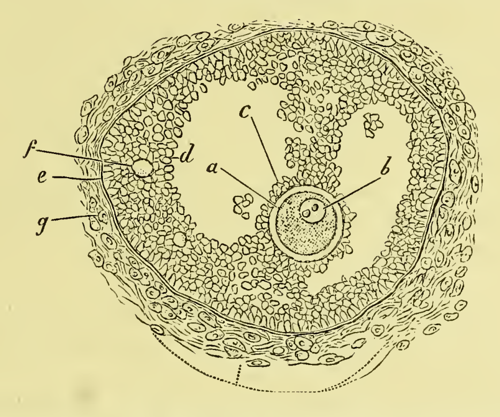


Fig. 45.—Corte de una vesícula de Graaf del ovario de la coneja. Acido ósmico; carmín; glicerina; a, protoplasma del óvulo; b, núcleo ó vesícula germinativa con dos nucleolos ó manchas germinativas; c, capa granulosa que rodea al óvulo, formada de pequeñas células epiteliales; d, zona granulosa que tapiza interiormente la vesícula de Graaf; e, pared de esta vesícula; f, vacuola limitada por células; g, capa fibrosa de la vesícula de Graaf. (A. 145).

mente granulosa, llena de inclusiones grasientas y albuminoides, que son las reservas alimenticias que utilizará el óvulo en su desenvolvimiento ulterior.

Divídese el *vitellus* en plástico ó de formación, y nutritivo ó alimenticio (1). El formador es aquel que todo entero se aprovecha para la cons-

(1) Remack ha designado con la expresión *holoblásticos,* los óvulos de formación; y con la de *meroblásticos* á los que encierran además una porción vitelina exclusivamente alimenticia. Estas designaciones han sido aceptadas por casi todos los embriólogos.

trucción de las células; y *nutritivo* el que, al ocurrir la segmentación del óvulo, no participa de este movimiento, representando el papel de mero depósito alimenticio.

El *vitellus* del óvulo de los mamíferos, así como el de los gusanos, moluscos, equinodermos y pólipos, es exclusivamente *de formación ú holoblástico,* porque todo él concurre á la formación del embrión. El *vitellus* del óvulo de las aves, reptiles, peces, excepción hecha de los ciclostomos, de los crustáceos, los arágnidos superiores y cefalópodos, es principalmente de nutrición, porque en él se contiene una porción considerable de materia que no concurre á la formación embrionaria.

El tipo de estos *vitellus* hállase en el huevo de las aves: aquí la yema consta de dos partes: una pequeña, periférica, subyacente á la membrana, en forma de disco blanco de 2,5^{mm} á 3,5^{mm} de diámetro (cicatrícula, disco prolígero), y este es el *vitellus* formador; y otra infinitamente mayor, formada por casi toda la yema, y esta es la porción exclusivamente nutritiva.

No quiere esto decir que el *vitellus* de los mamíferos no sea nutritivo también; lo es y en sumo grado como lo acredita la enorme cantidad de inclusiones grasientas y proteicas que contiene; solo que así como en las aves, peces, etc., estas dos materias, la nutritiva y la formadora, yacen separadas, en el *vitellus* de los mamíferos, moluscos, etc., están íntimamente unidas, participando juntas del movimiento proliferativo.

La membrana ó zona pelucida, se presenta en los óvulos de mamífero, bajo el aspecto de una capa transparente, homogénea, de 8 á 10 milésimas de grosor, bien limitada hacia dentro, menos bien contorneada por fuera, en cuyo espesor se perciben estrías paralelas, probablemente debidas á conductitos ó *micrófilos* que atraviesan la membrana. Por dentro de la zona pelucida se observa una membrana granulosa fina, intimamente unida al protoplasma, que se designa con el nombre de *membrana fundamental.*

El núcleo (vesicula germinativa de Purkinje) es un corpúsculo vesiculoso que contiene un liquido turbio y granuloso y uno ó varios nucleolos *(manchas germinativas* de Wagner). (Fig. 45, b).

B.—**El zoospermo ó filamento seminal** es también una célula, pero fuertemente transformada. Consta de cabeza, cuerpo y cola.

La cabeza es de forma olivar con una cara ligeramente cóncava, y representa en realidad el núcleo de la célula.

El cuerpo es delgado, de una á una y medio μ de espesor y de

aspecto granuloso. Su ausencia de coloración en presencia de los reactivos, y sus propiedades químicas demuestran que está porción es el protoplasma de la célula.

La cola es una finísima pestaña apenas perceptible en su punta, de gran longitud y transparencia, y dotada, en el vivo, de activos movimientos de oscilación.

Maturación del óvulo y zoospermo.—Tanto el óvulo como el zoospermo, deben experimentar, para estar en aptitud de conjugarse, ciertos cambios, consistentes esencialmente en la expulsión de una parte de la cromatina nuclear, que constituye, una vez libre, lo que se conoce con el nombre de *corpúsculos polares.*

Maturación del óvulo.—En el óvulo, donde primeramente se ha observado este curioso fenómeno, las cosas pasan del siguiente modo, debiendo advertir que nuestra descripción se refiere al *ascaris megalocefala,* donde se dan especiales facilidades para el estudio.

La vesícula germinativa del óvulo inicia una evolución cuyo objeto es la distribución de toda la cromatina nuclear en 8 trozos ó bastoncitos, que no tardan en apartarse formando dos grupos de á cuatro; después, la membrana nuclear desaparece y los bastoncitos cromáticos se alinean en el ecuador de un haz de hilos cromáticos, formados en el seno del protoplasma. Estos hilos, en vez de disponerse en huso cerrado y regular como en la kariokinesis ordinaria, se distribuyen en dos manojos convergentes por sus extremos en unos mismos focos ó polos. Cada haz ó semihuso sirve de apoyo á cuatro bastoncitos. Desaparecido el doble huso, los hilos cromáticos se dirigen á la periferia, donde ocurre una excisión protoplásmica, que aboca á la formación de dos células desiguales; el óvulo propiamente dicho, que conserva 4 bastoncitos cromáticos, y una pequeña célula, llamada primer *corpúsculo polar,* que se lleva consigo otros cuatro bastoncitos.

La formación del segundo corpúsculo polar ocurre de igual modo. Tras la formación de nuevos husos, sobreviene otra división celular, por cuya virtud será eliminada otra mitad de bastoncitos cromáticos, acompañada de otro trozo de protoplasma ovular, y de este modo los 8 bastoncitos contenidos en el óvulo antes de su maturación, quedan reducidos á 2. La descripción precedente está sa-

cada de los trabajos de van Beneden (1), Carnoy (2) y van Gehuchten (3). Se vé por lo expuesto que la división del núcleo ovular, para formar los glóbulos polares, tiene lugar á favor de una kariokinesis abreviada ó simplificada. No obstante, hay autores como Kulschitzky (4), que estiman este proceso como una división kariokinética legítima.

Una vez libres, los glóbulos polares comienzan á degenerar y acaso desaparecen por completo sin jugar papel alguno en la fecundación y desenvolvimiento embrionario.

Estos fenómenos de maturación del óvulo han sido observados tanto en los vertebrados como en los invertebrados, pudiéndose estimar como un precedente indispensable á la fecundación. Es preciso advertir que en los animales engendrados por partenogenesis el óvulo elimina exclusivamente un corpúsculo polar.

La separación de los corpúsculos polares ha dado lugar á hipótesis más ó menos ingeniosas, relacionadas con la herencia y fecundación.

E. van Beneden y Balfour, afirman que los corpúsculos polares representan el elemento masculino que todo óvulo debe eliminar, para recibir el aportado por el zoospermo; de suerte que el óvulo antes de su maturación (así como toda célula de tejido) debe considerarse como hermafrodita, dado que contiene á un tiempo cromatina ovular y zoospérmica.

Hertwig y Butschli no dan tanto alcance al fenómeno, y pretenden explicarlo, suponiendo que el óvulo, como la célula madre de zoospermos en ciertos animales, es capaz de producir nuevos corpúsculos, que, en el caso actual, vendrían á ser óvulos rudimentarios destinados á reabsorberse.

Opiniôn de Weismann. Para comprender la hipótesis de este autor es preciso decir algo de su parecer tocante á la construcción teórica de las células. Todo elemento consta de dos especies de materia viva (plasma): el *núcleo-plasma*, sustancia cuya misión es determinar la generación y guardar las cualidades hereditarias; y el *plasma nutritivo*, que yace en el protoplasma, y á cuyo cargo corren los fenómenos de asimilación, desasimilación, secrecio-

(1) *E. van Beneden:* Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire. *Arch. de Biologie.* T. IV. 1884.

(2) *Carnoy:* La vesicule germinative et les globules polaires de l'Ascaris megalocephala. *La cellula, tom. II, I fasee.*

(3) *Van Gehuchten:* Nouvelles observations sur la vesicule germinative et les globules polaires de *l'Ascaris megalocephala. Anat. Anzeiger. 1887.*

(4) *Kulschitzky:* Die Befruchtungsvorgange bei Ascaris megalocephala. *Arch. f. mik. Anat.* 1888.

nes y movimientos. El *núcleo-plasma* es muy abundante en el óvulo; la partición de éste disminuiría notablemente su representación en cada célula del embrión, si el *plasma nutritivo* no restableciese lo perdido á favor de su actividad asimilativa. El *núcleo-plasma* se compone á su vez de dos sustancias: *núcleo-plasma sexual*, que preside exclusivamente á la generación del organismo y reside no más en las células sexuadas (óvulos y zoospermos) y el *plasma histógeno*, procedente del anterior, que dirige la partición, evolución y morfología de las células de tejido, y pasa también á formar parte del núcleo de las células zoospérmicas y ovulares en la época en que se construyen los ovarios y testículos. En suma; el zoospermo y óvulo contienen dos especies de plasmas nucleares: el *histógeno* y el *sexual*.

Ahora bien; según Weismann, la fecundación y desarrollo embrionario no pueden realizarse sino á condición de ser expulsado, tanto del óvulo como del zoospermo, el *plasma nuclear histógeno*, quedando exclusivamente el *núcleo-plasma sexual*. Este fenómeno de eliminación tiene lugar á beneficio de la separación del primer *corpúsculo polar*.

Con la expulsión del *segundo corpúsculo polar*, el núcleo del óvulo y zoospermo se desembarazan de la mitad de su *núcleo-plasma sexual*, separándose de preferencia el correspondiente á los antepasados remotos, por donde la herencia tiende á reproducir los caracteres de los antecesores próximos. Mas como en cada uno de los infinitos óvulos ó zoospermos producidos por un organismo, el *núcleo-plasma sexual* eliminado no puede ser el mismo, de ahí que los hijos de unos mismos padres presenten, en medio de cierto parecido morfológico general, algunos caracteres propios, dependientes de que en cada fecundación, fué descartada, con el segundo corpúsculo polar, la representación hereditaria de un grupo especial de antepasados. Si no hubiese semejante eliminación del *núcleo-plasma* hereditario, observa atinadamente Weismann, en cada fecundación la cromatina nuclear (principal vehículo del plasma hereditario) se duplicaría, y restablecida la que se pierde durante el desarrollo embrionario por la actividad del *plasma nutritivo*, al cabo de algunas generaciones el núcleo del óvulo y zoospermo adquirirían proporciones colosales. Explica, además, este sabio la particularidad de que en el desarrollo partenogenético no se elimine más que un corpúsculo polar. En estos óvulos, donde el desarrollo ocurre sin fecundación, no existe *núcleo-plasma de antepasados*, y por tanto, no há lugar á eliminar más que el plasma histógeno correspondiente al primer corpúsculo polar.

2.—**Eliminación de corpúsculos polares en el zoospermo.** Ya hace algunos años, Weissman, había indicado que en fin de cuenta llegaría á observarse en el zoospermo una eliminación polar como la que tiene lugar en el óvulo. La profecía parece haberse cumplido,

si hemos de dar fé á las recientes observaciones de Bardeleben (1) recaídas en los zoospermos humanos y del conejillo de Indias. Según este autor, la cabeza de los zoospermos posee, antes de la maturación, un corpúsculo central rodeado de una membrana y provisto de granos cromáticos. Mediante dos particiones sucesivas, en las que la pequeñez excesiva del núcleo no permite percibir un huso acromático, elimínanse dos diminutos cuerpos polares, que aparecen durante su exducción á la manera de excrecencias de la cabeza del zoospermo. El esperma mismo. contiene en suspensión muchos de dichos glóbulos polares.

Conjugación del óvulo y zoospermo. Hé aquí un resumen del fenómeno, tal como lo explican van Beneden, Carnoy, Boberi (2) y Zacharías (3), que lo han observado en el *Ascaris megalocefala.*

En cuanto el núcleo del óvulo ha expulsado los 6 bastoncitos cromáticos (con los dos glóbulos polares), el zoospermo penetra á través de la membrana vitelina, no por aberturas preestablecidas ó micrófilos, sino por virtud de una digestión (Carnoy) ó disolución (Zacharías) de la misma. Una vez dentro, la membrana se cierra y endurece impidiendo el acceso de otros zoospermos.

El espermatozoo pierde rápidamente su cuerpo y demás accesorios, quedando reducido á su núcleo (mitoblasto de Zacharías), especie de grano cromático homogéneo que no tarda en dividirse en dos bastoncitos cromáticos. En esta situación, el protoplasma del óvulo contiene cuatro bastoncitos cromáticos sueltos, sin membrana nuclear ninguna, á saber: dos *masculinos,* originados de la cabeza del zoospermo; y dos *femeninos,* emanados del núcleo del óvulo. Las dos parejas se aproximan, colocándose de frente; pero no tardan en cambiar de posición, reuniéndose en dos nuevas parejas, que difieren de las anteriores en que, *cada una encierra un bastoncito masculino y otro femenino.* Por último, cada par hermafrodita adquiere una membrana nuclear, con lo que resultan dos núcleos ovulares bisexuados.

(1) *Karl Bardeleben:* Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft. ant. 5 Versammlung, in Munchen. 18-20 Mai.—*Erganzungheft zur schten Jahrgang 1891. des Anat. Anzeiger.*

(2) *Boberi:* Ueber die Befruchtung der Eier von Ascaris megalocephala. Mai, 1887,

(3) *Zacharias:* Neue Untersuchungen über die Copulation der Geschlechtsproducte und deu Befruchtungsvergang bei die Ascaris megalocephala. *Arch. f. mik. Anat. Bd.* 30. H. t. 1887.

Hasta aquí coinciden los autores; las divergencias empiezan ahora.

Según van Beneden, Carnoy y van Gehuchten, los fenómenos ulteriores son: desaparición de las membranas nucleares, con lo que resultan otra vez libres los 4 hilos cromáticos; aparición de un huso acromático, en cuyo ecuador, se dispondrán aquéllos en estrella (fase de estrella madre); excisión longitudinal de los hilos cromáticos para constituir dos estrellas hijas; finalmente, segmentación del protoplasma. Es de advertir que en este proceso, la formación de la estrella madre no es precedida de las fases de reticulación y ovillo, sino que los 4 hilos cromáticos vienen á ser desde luego las asas de la fase de estrella. Y nótese, sobre todo, que cada núcleo hijo, como todos los que se originen á favor de nuevas kariokinesis, contiene 4 asas, dos masculinas y dos femeninas. Esta determinación puede hacerse gracias á la carencia de período de reticulación cromática. En suma, en la conjugación no habría fusión substancial de la cromatina de dos núcleos (masculino y femenino) sino arreglo de una estrella de kariokinesis con 4 bastoncitos (femeninos y masculinos) preexistentes.

Según Zacharías, la conjugación se efectúa de dos maneras: 1.ª, sin fusión, es decir, por cambio y aproximación de los bastoncitos cromáticos, como ocurre en el proceder anteriormente descrito, y 2.ª, por fusión de los dos núcleos, masculino y femenino.

En el primer modo, los bastoncitos cromáticos masculinos, aproximándose á los femeninos, darían lugar á dos parejas hermafroditas; luego cada pareja se rodearía de membrana nuclear, y los dos núcleos resultantes serían teatro de los fenómenos kariokinéticos comunes (formación de red cromática y filamento continuo). En fin, llegada la fase de filamento continuo ó de ovillo, las membranas nucleares serían disueltas y cada hilo cromático se dividiría en dos horquillas; con lo cual resultarían 4 bastones cromáticos independientes.

El proceso, desde ahora, sigue las fases de la kariokinesis común, pues las 4 horquillas ó bastones se disponen en torno de un huso acromático (fase de estrella madre); ocurre luego la excisión longitudinal de los hilos; y, por último, se forman las estrellas hijas.

En el segundo modo, cada protonúcleo ó pareja cromática primitiva, antes de conjugarse, se rodea de una membrana, y aproximándose los dos núcleos resultantes, se funden en uno solo, que inicia ahora las fases kariokinéticas de *retículo, ovillo, estrella madre,* etcétera.

En suma, según el proceder primero, análogo al que describen van Beneden, Carnoy y van Gehuchten, los mitoblastos ó bastones cromáticos, no se funden, sino que cambian de lugar, constituyendo dos parejas hermafroditas, de las que resultarán, ocurrida la kariokinesis, dos núcleos hijos, cada cual provisto de dos bastoncitos cromáticos masculinos y de dos femeninos. Según el segundo proceder, los granos cromáticos masculinos y femeninos, formarían desde luego dos núcleos unisexuados, que se fundirían substancialmente en uno solo, sin que sea posible, como en el proceder anterior, seguir la filiación de cada elemento cromático.

Debemos advertir que el segundo modo conjugatorio de Zacharías es negado por van Beneden, atribuyéndolo á errores de interpretación. A este parecer se inclinan también Waldeyer (1) y Kultschitzky, que admiten exclusivamente el proceder descrito por van Beneden.

FORMACIÓN BLASTODÉRMICA.

Constituído el núcleo vitelino, síntesis de los núcleos masculino y femenino, iníciase la evolución embrionaria. El *vitellus* se retrae, apartándose de la cubierta; el núcleo se parte kariokinéticamente, y el cuerpo celular se extrangula y se divide también, resultando, por consecuencia, dos células ovulares. Cada una de éstas divídese después del propio modo, y así sucesivamente, hasta que se forma bajo la membrana vitelina un montón ó acúmulo celular que, por su aspecto granuloso, se ha denominado *mórula*.

De estas células, las más superficiales crecen hasta deformarse por recíproca presión, y dan origen á una especie de mosáico regular bajo la cubierta vitelina; las más internas conservan mejor la for-

(1) *Waldeyer:* Ueber karyokinese und ihrere Beziehunsgen zu den Befruchtungsvorgangen. *Arch. f. mik. Anat.* 188.

ma esférica y están separadas por un líquido bastante abundante. Poco á poco todas las células se disponen en una capa periférica, especie de membrana gruesa que reviste por dentro la cubierta vitelina. Esta membrana se designa con el nombre de *blastodermo,* y la fase embrionaria que representa llámase estado de *blastula* ó *vesícula cerrada*.

Fase de gástrula. En los vertebrados más inferiores, por ejemplo, en el *Anfioxus,* la blastula se convierte en *gástrula* por simple penetración ó invaginación de una porción de la vesícula blastodérmica, aplicándose sucesivamente las superficies interiores de las dos paredes y constituyéndose un blastodermo con dos hojas, *externa* é *interna,* ó *ectodermo y entodermo.* El pequeño espacio que resulta entre las dos hojas, se llama *cavidad de segmentación;* el hueco que limita la pared invaginada ó entodermo *colenteron,* y el agujero por el cual el colenteron se comunica con el exterior, *blastóporo.*

En los gusanos, equinodermos, braquiopedos, etc., la fase *gástrula* constituye una larva independiente que se nutre por sí, experimentando algunas modificaciones, tales como la aparición de pestañas, etcétera. El *colenteron* hace oficio de cavidad digestiva y el entodermo de mucosa intestinal. En los vertebrados la gástrula vive parásita y se alimenta ó de reservas alimenticias acumuladas en la yema, ó de los jugos circulatorios del aparato genital.

En los anfibios, la gastrulación recuerda todavía la forma típica del anfioxus, pero en los reptiles, aves y mamíferos, la disposición se complica, siendo difícil determinar el mecanismo de formación de la hoja interna.

Así, en el conejo, una vez formado el blastodermo, aparece en un punto de la superficie interior de éste, un acúmulo irregular de células que no tarda en ordenarse en membrana independiente. Sus elementos son aplanados y se disponen en una sola hilera contínua, algo apartada de la hoja primitiva.

Esta nueva membrana, que corresponde al entodermo de los vertebrados inferiores, ¿de dónde procede? Según las más recientes investigaciones de Selenka, Keibel, etc., al nivel del reborde terminal del área embrionaria, cerca del surco primitivo, el blastodermo se espesa y contiene un agujero que representa un blastóporo rudimentario. Ahora bien; aprovechando este orificio, las células blas-

todérmicas penetrarían en el interior del óvulo, y constituirían un grupo irregular que, proliferando y extendiéndose en membrana, engendraría el entodermo. La diferencia, pues, que separa la gastrulación de los mamíferos de la del anfioxus, consiste en que en aquéllos, no hay una invaginación perfecta de la pared blastodérmica, sino simple caída dentro de la blástula de un grupo de corpúsculos blastodérmicos.

Diferenciaciones del entodermo. A favor de invaginaciones, replegamientos y diferenciaciones celulares, el entodermo engendra varios órganos, á saber: la notocorda, las dos hojas mesodérmicas y el intestino.

Las fases de este proceso se han estudiado muy bien en el anfioxus. En cuanto la gastrulación se establece, el entodermo constituye tres repliegues: uno situado por debajo del surco primitivo (al nivel del paraje en que el ectodermo constituye el repliegue destinado á engendrar la médula y cerebro), y dos situados á los lados de éste. El primero, á favor de la aproximación de sus bordes y de la diferenciación de sus células, origina la *notocorda;* los laterales, separándose hacia afuera é insinuándose entre las dos membranas blastodérmicas, se transforman en dos sacos laterales cerrados que no tardan en romper su continuidad con el entodermo. La cavidad de estos sacos toma el nombre de *celoma;* de ella se constituirá ulteriormente el espacio perivisceral ó seroso del tronco (pleura y peritoneo). Y las paredes de los mismos, aplastadas en el sentido de las membranas blastodérmicas, se llaman *mesodermo* ó *membranas mesodérmicas.* Más adelante, los dos huecos celómicos se segmentarán transversalmente en varios receptáculos mesodérmicos que se califican de *segmentos primordiales.*

El origen del mesodermo de los mamíferos, constituye uno de los puntos más obscuros de la histogenia. La opinión más general, es que el mesodermo procede del ectodermo (como ya descubrió Kölliker) al nivel del surco primitivo. Con todo, las opiniones más modernas (Beneden, Balfour, O. Hertwig), marcan una laudable tentativa á la reducción de este proceso al ya mencionado del anfioxus y de los urodelos. Así, Van Beneden, en el conejo, y Balfour, en el topo, han hecho descripciones que recuerdan completamente la formación mesodérmica de los vertebrados inferiores. Las hojas

mesodérmicas procederían del entodermo, pero la continuidad se establecería por debajo del blastóporo, cerca del paraje en que las dos hojas blastodérmicas se adhieren; por cuyo motivo, ciertas preparaciones, mostrarían el mesodermo continuado y como fundido con el ectodermo. Por otra parte, lo que dificulta la reducción de este proceso al tipo de formación del anfioxus, es que el endodermo, en vez de emitir dos repliegues laterales huecos, engendra dos grupos irregulares de células, los cuales, van creciendo hacia los lados, separándose muy precozmente de su pedículo de unión con la hoja interna. Solo más adelante, aparece en la masa celular mesodérmica el hueco del celoma aplastado ó borrado en el primer momento.

Llegado á esta fase, el embrión aparece constituído por tres hojas superpuestas: *ectodermo,* que se repliega ya al nivel de la línea primitiva para formar el conducto de la médula y encéfalo; el *mesodermo,* ahuecado por el celoma y separado al nivel del surco primitivo en dos hojas laterales discontínuas; el *entodermo,* que constituye una vesícula cerrada y sin dependencia ya ni con la notocorda, ni con el mesodermo, convertidos ahora en órganos autónomos. Cada una de estas tres hojas engendra una serie especial de tejidos: el *ectodermo* produce el epidermis cutáneo de las glándulas tegumentarias, el de los pelos, el tejido del cristalino, el sistema nervioso, etcétera; el *mesodermo* engendra los músculos y (al menos en los vertebrados superiores) el tejido conectivo, el vascular y la sangre; el *entodermo* origina el epitelio intestinal, el de sus glándulas anejas, etcétera.

Teoría del mesenquima. Hertwig califica de *mesenquima* el conjunto de los tejidos vegetativos del organismo, tales como la sangre, los vasos y las materias conectivas de toda especie. Semejantes formaciones, afines por su estructura y actividad fisiológica, reconocerían un origen común. En los equinodermos, la sangre y substancia conectiva nacerían del entodermo, en cuanto éste se inicia por invaginación de la hoja primitiva. Las células derivadas del entodermo, gozan de movimientos amiboides, se dispersan entre las dos hojas primordiales, y se transforman paulatinamente en leucocitos y fibras musculares lisas.

El origen del tejido conectivo y sangre de los vertebrados, está rodeado de grande obscuridad; no obstante, hay tendencia á buscar

la génesis de estos tejidos en el mesodermo, al nivel de regiones especiales. Así, en los embriones de selacio, el tejido conectivo derivaría de una región de la pared interna de los segmentos primordiales (bolsas mesodérmicas), desde donde las células desprendidas se diseminarían para envolver la notocorda y médula espinal embrionaria. En los mamíferos, el mesenquima, es decir, el conjunto de tejidos vegetativos, tales como la sangre, vasos, tejidos conectivos, procedería de ciertas células desprendidas de los segmentos mesodérmicos. Bajo la influencia de diferenciaciones complicadas, estos elementos se transformarían en sangre, tejido óseo, cartilaginoso, conectivo y vascular.

Teoría del parablasto. Según H. His, los tejidos del embrión dimanan de dos gérmenes: el *archiblasto* ó *germen principal,* y el *parablasto* ó *germen accesorio.*

El *archiblasto* está constituído por las tres hojas blastodérmicas y todas las derivaciones directas del óvulo. A sus expensas se engendrarían el sistema nervioso, la piel, el intestino y los músculos.

El *parablasto* está representado por ciertos corpúsculos no derivados de la segmentación del óvulo, sino originarios del ovario de la madre, del cual pasarían dispersos al espesor de la yema. Estos elementos sueltos penetrarían secundariamente entre las hojas blastodérmicas ó *germen archiblástico,* y darían nacimiento por diferenciaciones sucesivas á la sangre, tejido vascular y conjuntivo.

La teoría de His, aceptada en principio por algunos autores, va perdiendo terreno por cada día. Los autores más modernos, tales como Kölliker, O. Hertwig, Rabl, Ziegler, etc., rechazan la existencia del germen accesorio, y admiten que todas las formaciones embrionarias sin excepción provienen, en definitiva, de las esferas de segmentación del óvulo.

SECCIÓN TERCERA.

HISTOLOGÍA.

CAPÍTULO I.

Concepto de tejido y de sistema. — Clasificación de los tejidos. — Crítica de las principales y clasificación preferible. — Plan descriptivo de los tejidos.

A.—**Histología** (de ἵστος, tejido y λόγος tratado.) Es la sección de la Anatomía general que estudia los tejidos orgánicos.

Como en la Elementología, cabe hacer en esta rama anatómica varias divisiones: la *histología animal,* la *histología vegetal,* la *histogenia* (evolución ontogénica de los tejidos), la *histología comparada* (estudio de las diferencias que los tejidos revelan en la serie animal), la *histoquimia* (química de los tejidos), y, por último, la *histología estática* y la *histología dinámica* (fisiología de los tejidos).

De todas estas secciones, expondremos solamente la histología animal, preferentemente del hombre y mamíferos superiores, cuyo acuerdo estructural consiente hacer un solo cuerpo de doctrina. No obstante, con objeto de comprender mejor ciertas disposiciones histológicas complicadas del hombre, cuyo estudio se simplifica é ilustra parangonándolas con las análogas de los vertebrados inferiores (aves, reptiles, batracios, etc.), aprovecharemos alguna vez los datos de la histología y de la histogenia comparadas.

Si en el estudio de esta parte de la Anatomía general, hubiéramos de atenernos al criterio puramente anatómico, debiéramos exponer exclusivamente la histología estática, pues la dinámica es del resorte de la fisiología. Mas el uso, más poderoso que la lógica, autoriza cierta imbricación de dominios que no deja de ofrecer algunas ventajas didácticas. Las consecuencias dinámicas brotan tan suave y naturalmente de las premisas estáticas, que no es posible, sin notoria desventaja práctica, divorciar estos dos órdenes de ideas,

repartiéndolas en instituciones diferentes. Así, por ejemplo, las teorías de la contracción muscular se fundan sobre el conocimiento de la textura de la fibrilla primitiva. La función del hígado, la del bazo, la del ganglio linfático, es decir, la de los tejidos glandulares, deriva legítimamente de la noción de su estructura, etc.

Por esta razón, casi todos los histólogos (y nosotros les seguiremos en esto), han adoptado la costumbre de asociar á los hechos de histología anatómica, breves nociones de histogenia, de histoquimia y de histología dinámica.

B.—**Tejido.** El tejido es la agrupación, en un orden constante, de elementos anatómicos semejantes por sus propiedades estático-dinámicas.

Constituyen los tejidos familias naturales derivadas de unos mismos corpúsculos embrionarios, los cuales han conservado á través de muchas generaciones, sus hábitos morfológicos y fisiológicos.

El tejido es el material, sin propia configuración, utilizado por la naturaleza en la construcción orgánica. Su moldeamiento, en una forma típica y constante, da lugar á los órganos, que vienen á ser los departamentos del edificio viviente. Aunque, de ordinario, asócianse varios tejidos para formar el órgano, existen también órganos constituídos de un solo tejido (cristalino, uñas, pelos, cartílagos).

El tejido, considerado en abstracto, posee una actividad, suma de las actividades de sus células integrantes, que es la propiedad histológica; asociado con otros en el órgano, da origen además á una resultante vital que recibe el nombre de función.

La significación vulgar de la expresión *tejido* implica dos nociones· es la una, la de trama ó masa compuesta de elementos largos y entrecruzados; y es la otra, la suposición de la fijeza y solidez de los mismos: prejuícios inexactos, porque los más de los tejidos contienen elementos esféricos ó poliédricos simplemente yuxtapuestos y adheridos, bien por ajuste inmediato, bien á beneficio de substancias ó cementos intercalares; y además, porque existen otros cuya liquidez (la materia fundamental), imposibilita la fijeza y solidez de las conexiones celulares.

C.—**Sistema.** Sistema es la asociación de tejidos que se repite con caracteres constantes en los mismos órganos. El modo de agregación de estos tejidos en las partes de igual naturaleza, obedece á leyes fijas y merece un estudio particular.

Es preciso no confundir el sistema con el tejido ni con el órgano. Entre estas partes existen categorías de generalidad que importa hacer resaltar. Un ejemplo aclarará bien estas diferencias. La mezcla compleja de los tejidos vascular, óseo, fibroso, medular, etc., que constituye el material de construcción de todos los huesos, se llama sistema óseo. Este mismo material modelado é individualizado, da lugar al órgano hueso. En otros términos, lo que los órganos tienen de común, forma el sistema; lo que cada uno tiene de propio, determina el órgano.

En orden á su generalidad, el sistema está menos repetido que el tejido, pero lo está mucho más que el órgano. En el anterior ejemplo, los tejidos conjuntivo, vascular, medular, etc., constituyentes del sistema óseo, son más generales que éste, pues que se los halla en otros muchos sistemas (muscular, nervioso, seroso, etc.); y el sistema alcanza mayor generalidad que el órgano, por cuanto éste no se repite con su forma propia sino en los simétricos entre sí, ó en las escaras metámeras del organismo (vértebras), y aquél comprende á todos los órganos de igual naturaleza.

D.—**División de los sistemas.** Según nuestra definición de sistema habrá tantos sistemas como especies de órganos. Y por tanto, se contarán: el sistema óseo, fibroso, seroso, cartilaginoso, muscular, adiposo, vascular, glandular, nervioso y tegumentario.

El estudio de los sistemas corresponde á la Anatomía general por razón de método (son partes generales); mas consideraciones didácticas aconsejan su inclusión en la Anatomía descriptiva como preliminar natural de la exposición de la Organografía; porque las cuestiones de estructura macroscópica, situación, forma general, conexiones, etc., que principalmente comprende el estudio de los sistemas, se armonizan mucho mejor con las descripciones organográficas, que con las nociones de textura, de origen y de diferenciación celular de que preferentemente trata la histología normal.

Esto, no obstante, conformándonos con el uso, nosotros estudiaremos después de la histología algunos de los más importantes sistemas anatómicos, como son: el glandular, el vascular, el seroso y el tegumentario, que casi todos los histólogos incluyen en los tejidos bajo la designación de tejidos compuestos.

E.—**Clasificación de los tejidos.** Aunque cada tejido posee ca-

racteres propios que le circunscriben é individualizan, existen también analogías y afinidades por las cuales cabe establecer entre ellos cierta categorización. Hay formas histológicas próximas, ora por consecuencia de su común procedencia, ora por la semejanza de sus células, bien por analogía de conexiones de éstas, bien por virtud de similitudes químicas y fisiológicas. Cualquiera de estas analogías puede servir de base para una clasificación histológica. Mas á pesar de esta abundancia de criterios, es difícil hallar uno que pueda aprovecharse uniformemente en la ordenación de las clases y de las especies, y sobre todo, que alcance tanta esencialidad, que una vez aplicado, los tejidos se agrupen en familias naturales, donde sin esfuerzo quepan las formas histológicas conocidas. De aquí que todas las clasificaciones pecan de cierto carácter de ordenamiento artificial y arbitrario, que satisface poco las exigencias de la lógica y pugna con las necesidades de la didáctica. Estos escollos han movido á histólogos de nota á rechazar toda tentativa de clasificación y á disponer los tejidos según una superposición alfabética, ó puramente serial, comenzando por las formas más sencillas y acabando por las más complicadas.

Esta reacción contra las clasificaciones, es á todas luces injusta. Por artificial que una clasificación histológica sea, siempre arrojará de sí más ventajas que el más feliz ordenamiento serial. Las afinidades y antagonismos enunciados en las claves de las agrupaciones principales, adelantan ideas generales relativamente á la naturaleza de los tejidos, evitan repeticiones de caracteres comunes en cada descripción particular, y marcan el orden natural de exposición.

Hé aquí alguna de las bases que pueden adoptarse en una clasificación histológica:

a.—**Base genética.** Una clasificación fundada en la consideración del origen, como principio uniforme, podría comprender tres grupos principales de tejidos: uno, de las formas derivadas del ectodermo; otro, de las nacidas del mesodermo, y otro, de las engendradas por el entodermo. Los géneros y las especies podrían obtenerse amparándose en los diversos modos evolutivos observados en la histogénesis, etc.

Desde luego salta á la vista cuán poco útil sería una clasificación semejante, bajo el punto de vista anatómico y fisiológico. Es cierto

que en ella se consignarían las hojas blastodérmicas de que cada tejido procede; pero nos veríamos en el caso de reunir en un mismo grupo tejidos tan desemejantes como el epidérmico y el nervioso, el muscular y el conjuntivo; y de disociar formas tan afines como el epidermis y el epitelio intestinal, el endotelio y el epitelio.

b.—**Base fisiológica.** Con arreglo á ella cabría agrupar los tejidos por las analogías de sus actividades ó propiedades fisiológicas. Todos los tejidos gozan, como las células que los componen, de las tres actividades fundamentales de la vida: nutrición, relación y reproducción. Pero, en medio de esta uniformidad de propiedades, cada especie histológica posee una virtud fisiológica predominante, que Virchow calificó de irritación funcional. Entre estas actividades preferentes existen lazos analógicos que podrían servir de fundamento á la distribución de los géneros. Así, los tejidos que tienen por propiedad común la producción de principios inmediatos, los que se distinguen por la virtud de transformar las fuerzas caloríficas y químicas en nuevas energías (muscular, nerviosa), los que se entregan á la producción de materiales esqueletíferos (óseo, conjuntivo, cartilaginoso, etc.), los que se especializan dedicándose al cambio de gases (sangre, quilo, linfa), etc., etc., pasarían á formar otros tantos géneros histológicos, susceptibles á su vez de condensarse, según los fines que las citadas actividades tendiesen á cumplir, en tres grandes agrupaciones (nutrición, relación, reproducción).

El más grave inconveniente con que semejante clasificación tropezaría, consiste en que existen tejidos cuya actividad fisiológica, ó no existe, ó caso de existir, es desconocida, por lo cual sería casi imposible incluirlos en la clasificación; por ejemplo: el tejido córneo, el del cristalino, el del esmalte, etc.

c.—**Base anatómica.** Es la más racional y la más legítima en un estudio anatómico de los tejidos. Existe, no obstante, una dificultad para su aplicación. Dentro de ella se encierran diversos caracteres estáticos, cada uno de los que podría utilizarse como principio de clasificación; por ejemplo: la forma de las células, su estructura ó grado de diferenciación y sus conexiones. Si adoptamos la forma celular, nos veremos precisados á asociar en un mismo género el tejido nervioso y el conjuntivo, pues ambos contienen células asteriformes; el tejido muscular y el del cristalino, porque parti-

cipan de composición fibrilar: asociaciones que pugnan con la extrema diferencia estructural y fisiológica que distinguen estos elementos. De elegir la estructura celular, caeremos en el defecto de asimilar la célula nerviosa ganglionar con la cartilaginosa y grasienta (por las membranas de envoltura); y la conjuntiva con la nerviosa central, etc., disociando unas veces formas afines bajo el punto de vista genético, conexiones, forma, etc., y confundiendo en otras, modalidades divergentes bajo iguales aspectos. La consideración de las relaciones celulares (directas ó indirectas) nos conduciría á la formación de dos grandes grupos, epitelios y tejidos con materia fundamental; pero esta misma base no podría utilizarse sin graves violencias en el ordenamiento de los géneros histológicos.

De lo expuesto se infiere, que son inaplicables las bases uniformes, pues cualquiera que sea la elegida, resulta siempre una clasificación, si fácil y natural en las clases, arbitraria y artificial en los géneros.

Precisa, por tanto, aceptar una base mixta que esté calcada en el anatomismo de las células, y de tal suerte elegida, que los tejidos en el mismo grupo asociados por analogías estáticas, posean además, á ser posible, afinidades genéticas y fisiológicas.

Una de las bases que, á nuestro juicio, ofrece más ventajas, es la de las conexiones celulares para la distribución de las clases, y el grado de transformación celular para los géneros. Por virtud de la correlación existente entre el grado de diferenciación de la célula y su actividad funcional, una clasificaeión fundamentada en este dato resulta fisiológica también, al menos en casi todas sus partes.

Hé aquí nuestra clasificación:

- **Tejidos.**
  - Formados de células unidas directamente.
    - Con células poco diferenciadas de su estado originario. . . . . Epitelial. . . . 1
    - Con células profundamente transformadas. . . . . .
      - Del esmalte. . 2
      - Del cristalino. 3
      - Córneo. . . . 4
  - Constituídos por células unidas indirectamente ó por medio de materias intersticiales. . . .
    - Con células poco ó nada diferenciadas.
      - Con materia fundamental líquida. . .
        - Sangre. . . . 5
        - Linfa. 6
      - Con materia fundamental semi-sólida. .
        - Conjuntivo. . 7
        - Adiposo.. . . 8
      - Con materia fundamental sólida.. . . .
        - Cartilaginoso 9
        - Óseo. 10
        - Dentario. . . 11
    - Con células transformadas . . . .
      - Muscular. . . 12
      - Nervioso. . . 13

Esta clasificación que, como veremos más adelante, tiene analogía con la de Virchow, reune las ventajas siguientes: 1.ª, se funda en bases puramente anatómicas, con lo cual anticipa nociones comunes á diversos tejidos, señalando sus afinidades morfológicas; 2.ª, ordena las especies, marchando de las más simples (epitelio) á las más complicadas (tejido nervioso y muscular); y 3.ª, armoniza con el criterio fisiológico, pues en ella se asocian tejidos de análogas propiedades, etc. Sin duda que esta clasificación tiene defectos, pero éstos son inevitables en el estado actual de la ciencia. Si nuestros conocimientos acerca de la textura celular fuesen completos, la mejor clasificación histológica seria la fundamentada en este principio, pues es indudable que la actividad fisiológica del tejido deriva de la especial diferenciación estructural de sus elementos anatómicos, así como de su particular composición química. Una tal clasificación, con una base uniforme, seria anatómica, fisiológica y quizás genética á la vez, siendo, por ende, la más natural y racional.

En la clasificación anteriormente expuesta no incluímos algunos de los tejidos que figuran en otras clasificaciones. Por ejemplo, no incluímos la variedad elástica, porque no posee células; y una masa sin elementos celulares, á menos de ser inconsecuentes en la defi-

nición de tejido, nò puede estimarse como tal; cuanto más, que la situación, forma, génesis, etc. de las fibras elásticas, nos dan á entender claramente la necesidad de su estudio con la materia fundamental del tejido conectivo. Ciertas formas compuestas que los autores comprenden entre los tejidos, v. gr.: el tejido piloso, de las uñas, glandular, vascular, tegumentario, seroso, etc., tampoco figuran en nuestra clasificación, por la razón de que son sistemas orgánicos; su exposición debe formar capítulo aparte, antes de la organografía, asociados con el resto de los sistemas (muscular, óseo, ligamentoso, nervioso, dentario, etc.) Proceder de otra suerte es confundir dos cosas muy diversas bajo una misma denominación. El tejido es una masa de elementos de igual naturaleza, que entra como factor en la construcción de los órganos; en tanto que sistema es la materia compleja formada de todos los tejidos que integran cada especie de órganos, v. gr.: sistema glandular es la trama total que forma el órgano glándula; en él concurren los tejidos epitelial, conjuntivo, nervioso, y hasta otros sistemas también, como el vascular, por ejemplo. Como consecuencia de esta complejidad, los sistemas tienen menos generalidad que los tejidos componentes. Y no parece muy lógico incluir en la misma categoría anatómica dos formas, la una simple y extremadamente general (el tejido), la otra compleja y mucho menos repetida (el sistema).

Principales clasificaciones histológicas.—La primera tentativa de clasificación de los tejidos se debe al ilustre Bichat, que los agrupó en dos clases: *tejidos generadores* y *tejidos secundarios*.

Los primeros son en número de seis: *el arterial, el venoso, el exhalante, el absorbente, el nervioso* y *el celular;* los secundarios, en número de catorce, son: *el óseo, medular, cartilaginoso, fibroso, fibro-cartilaginoso, muscular de la vida animal, muscular de la vida orgánica, mucoso, seroso, sinovial, glanduloso dermoideo, epidermoideo* y *piloso.*

Esta clasificación realizaba un gran progreso en la época que se publicó, y maravilla cómo su autor, sin los recursos micrográficos de nuestros días, sin otro apoyo que las propiedades químicas, físicas y fisiológicas, acertó á separar tantas formas histológicas, muchas de las que poseen personalidad indudable. Bien se echa de ver que el criterio adoptado por Bichat para la determinación de la individualidad histológica, fué principalmente la consideración de la función y las propiedades físicas de los tejidos; mas faltándole las enseñanzas micrográficas, cayó necesariamente en el error de separar for-

mas idénticas (tejido exhalante, absorbente, arterial, etc.), y de estimar como tejidos muchos sistemas (piloso, mucoso, sinovial, glanduloso, etc.)

Schwann, el fundador de la histología moderna, ideó la primera clasificación cimentada en la textura de los tejidos, revelada por el microscopio. Este autor los reunió en cinco clases: 1.ª *Tejidos formados por células independientes y aisladas* (elementos que nadan en líquidos, como los de la sangre, linfa, moco, pus, etc.)—2.ª *Células independientes que forman por su reunión un tejido ligado* (tejido córneo y cristalino).—3.ª *Células en las cuales están soldadas las paredes* (cartílagos, huesos, dientes).—4.ª *Células de tejido conjuntivo* (tejido celular, aponeurótico y elástico).—5.ª *Células cuyas paredes y cavidades se confunden* (músculos, nervios, capilares). Palpita en esta clasificación la justa tendencia á simplificar las especies, y agruparlas según una base anatómica é histogenética, principios mucho más racionales y fecundos que los adoptados por Bichat. Mas contiene todavía errores de cuenta. Uno de ellos es separar el tejido conjuntivo del óseo, cartilaginoso, etc., á despecho de sus comunes caracteres histogenéticos, fisiológicos y anatómicos; y el otro basar la agrupación de los tejidos muscular, vascular y nervioso, en una hipótesis no confirmada, la de que se constituyen por células de cavidades y paredes confundidas. Aparte de que el tejido vascular es un sistema, y le separan del muscular y nervioso hondas diferencias estructurales y fisiológicas.

Con ser esta clasificación tan incorrecta, tuvo cierta boga, y aun hoy, más ó menos modificada, es aceptada por muchos. Entre las clasificaciones que aún conservan cierta similitud con la de Schwann, hállase la de Frey. Este histólogo agrupa los tejidos en cinco clases: A, *tejidos celulares simples con substancia fundamental líquida* (1.ª sangre, 2.ª quilo y linfa). B, *tejidos simples con substancia fundamental homogénea, sólida y poco abundante* (3.ª epitelio, 4.ª uñas). C, *tejidos formados por células simples transformadas ó anastomosadas, separadas por substancia fundamental homogénea ó fibrilar, y generalmente sólida* (5.ª, cartilaginoso; 6.ª, mucoso; 7.ª, conjuntivo reticulado; 8.ª, adiposo; 9.ª, conjuntivo; 10, óseo; 11, dentario); D, *tejidos constituídos de células transformadas, en general no anastomosadas y separadas por substancia fundamental homogénea, resistente y poco abundante* (12, esmalte; 13, cristalino; 14, muscular). E, *tejidos compuestos* (15, nervioso; 16, glandular; 17, vascular; 18, piloso).

Muchos defectos se notan en esta clasificación. Supuestas las bases de forma celular, del grado de su diferenciación, de la naturaleza y abundancia de las materias amorfas, que parecen haber servido á Frey en la distribución anteriormente expuesta, parecía natural que el tejido piloso se estudiara con el de las uñas, pues ambos tienen casi igual complicación estructural y han sufrido análogas transformaciones; y no obstante, el piloso figura en el grupo

de los compuestos, y las uñas en la clave de los tejidos simples de carácter epitelial. Ni se acierta fácilmente á comprender cómo el tejido muscular se encierra en el mismo grupo del cristalino y del esmalte, de los que le separan inmensas distancias de orden estructural, fisiológico y genético, sin más carácter común que el ofrecer una gran divergencia de su forma embrionaria. Es más: de aceptar este carácter (gran diferenciación), como criterio preferente, no se vé la razón por la que no ha sido incluído en este mismo grupo de tejidos transformados el nervioso, que, aparte de su alta diferenciación, le enlazan al muscular similitudes estructurales y fisiológicas. Frey no sólo lo aparta del muscular, sino que lo asocia á los tejidos compuestos, sin tener en cuenta que el tejido nervioso (el tejido, no el sistema), le constituyen no más dos formas: la célula y el tubo nerviosos, alcanzando tanta ó mayor simplicidad que el piloso, muscular, conjuntivo, etc., colocados entre los tejidos simples. No es fácil inferir lo que Frey entiende por tejidos compuestos. Si por tales toma las masas de tejidos simples, constituyentes de los órganos (glandular, piloso, seroso, etc.), entonces confunde los tejidos compuestos con los sistemas, y á ser lógico debía sobrecargar la clave de estos tejidos con todos los demás sistemas orgánicos; y si estima la nota de compuesto, como sinónima de complejo, ¿cómo no asocia á los compuestos el tejido muscular, conjuntivo, etc., que abrazan tantos caracteres estructurales y morfológicos?

Leydig acepta una base exclusivamente fisiológica, Con ella logra disponer dos grandes clases bastante naturales; mas no acertando á llevar este criterio á la distribución de los géneros, los ordena caprichosamente. Hé aquí su clasificación: A. *Tejidos vegetativos:* 1.º, de substancia conjuntiva; 2.º epitelios, glándulas y tejido córneo; 3.º, sangre y linfa. B, *Tejidos animales:* 1.º, tejido muscular; 2.º, tejido nervioso.

Más sencilla y natural en sus bases es la clasificación de Virchow. Este autor reune todos los tejidos en tres grupos: 1.º, *tejidos celulosos, ó formados solamente de células* (epitelios); 2.º, *tejidos de substancia conjuntiva* (conjuntivo, óseo, cartilaginoso, etc.); 3.º, *tejidos de células transformadas* (nervioso y muscular).

Cornil y Ranvier adoptan un principio semejante (diferenciación celular y modo de engranaje de los elementos), llegando á un resultado parecido. Kölliker, Fort, Giné, etc., la aceptan con ligeras variantes; y nosotros la hemos aceptado también como puede verse en la clasificación más atrás expuesta.

La boga de tal clasificación se debe á la preferencia de las bases anatómicas en que se apoya, y á que las agrupaciones histológicas que resultan constituyen familias naturales de tejidos de consanguinidad notoria, tanto en la esfera anatómica como en la genética y fisiológica.

No faltan histólogos que, temerosos de las dificultades que lleva consigo una clasificación histológica, han hallado más cuerdo no hacer ninguna y exponer los tejidos al capricho, ó apoyándose en consideraciones arbitrarias y extracientíficas. Henle inició esta herejía didáctica, bien que luego arrepintióse, aceptando un ordenamiento semejante al de Virchow; Fort, tuvo por mejor para huir de prejuícios teóricos y de bases falsas ó incompletas, disponer los tejidos alfabéticamente; Maestre de San Juan, con mejor acuerdo, ha escogitado un ordenamiento por sucesiva complicación estructural, sacrificándolo todo á las exigencias de la didáctica. Hé aquí su clasificación: 1.°, *tejido conjuntivo;* 2.°, *adiposo;* 3.°, *fibroso-elástico;* 4.°, *cartilaginoso;* 5.°, *fibro-cartilaginoso;* 6.°, *óseo;* 7.°, *epitélico;* 8.°, *seroso;* 9.°, *muscular;* 10, *vascular;* 11, *nervioso;* 12, *tegumentario;* 13, *glandular;* 14, *de los dientes;* 15, *de los pelos;* 16, *de las uñas, y* 17, *del cristalino.*

De buen grado aceptaríamos este ordenamiento, que tiene positivas ventajas; pero estamos convencidos de que esta misma progresión ascendente de complejidad puede conciliarse con las exigencias del método, adoptando nuestra clasificación, ó la misma de Virchow, de la que deriva. En estas clasificaciones ya hicimos notar que las especies histológicas se superponían por orden de simplicidad, figurando en las primera clase el tejido epitelial (el más sencillo, pues sólo consta de células), y en la última el tejido muscular y nervioso (los más complejos y diferenciados).

Recientemente H. His distribuye los tejidos en dos grandes clases: *Archiblásticos* y *parablásticos.*

Los *archiblásticos,* que provendrían del archiblasto ó *germen principal,* serían: el nervioso, el muscular, el tegumentario y el glandular.

Los *parablásticos* dimanarían del parablasto ó *germen accesorio,* y son: la sangre, el tejido vascular y los de substancia conjuntiva. Esta clasificación se funda, como ya expusimos más atrás, en una hipótesis embriogénica, no confirmada, y por consiguiente no puede aceptarse. Aparte de que cada uno de ambos grupos contienen tejidos totalmente divergentes en propiedades morfológicas y fisiológicas.

Plan descriptivo de los tejidos. A fin de ajustar la descripción de los tejidos á un molde uniforme, expondremos en todos ellos, y en este mismo orden, los siguientes caracteres: 1.°, *lógicos* (definición y clasificación); 2.°, *topográficos* (distribución y extensión en el organismo); 3.°, *físico-químicos* (color, dureza, elasticidad, higrometricidad, composición química, etc.); *anatómicos* (estructura y textura); *dinámicos* (propiedades fisiológicas), y *genéticos* (origen y metamórfosis de las células de cada tejido). La descripción tendrá

por remate una breve reseña acerca de los medios de preparación del tejido.

CAPÍTULO VI.

TEJIDO EPITELIAL.

a.—**Def.** *El tejido epitelial* es una trama orgánica de aspecto cuticular, que reviste todas las superficies libres, tanto interiores como exteriores del organismo, y compuesta de células unidas directamente entre sí ó por intermedio de una pequeña cantidad de materia intersticial.

b.—**Distribución general de los epitelios.** Este tejido está profusamente esparcido en la economía animal. Reviste, formando membranas compuestas de uno ó más estratos celulares, las dos superficies limitantes del organismo: la piel y el tubo intestinal. Recubre y protege también las caras libres de los órganos interiores, por ejemplo: la cavidad del corazón y de los vasos, la de las serosas, el hueco de las glándulas, los ventrículos del cerebro y el epéndimo de la médula, las cámaras del globo ocular, cavidades auditivas y todas las membranas mucosas.

c.—**Caracteres físicos.** Las membranas epiteliales son elásticas, extensibles, de consistencia semisólida, y de color transparente algo opacado en las variedades estratificadas, etc., etc. Todos estos atributos varían notablemente en cada especie epitelial, como más adelante veremos.

d.—**Estructura.** Constan los epitelios de dos partes: *las células* y *la materia instersticial* ó cemento de unión de éstas.

Las células son abundantísimas en este tejido, tanto, que puede decirse que exclusivamente lo forman, al revés de otros tejidos (conjuntivo, óseo, cartilaginoso, etc.), en que las células están distanciadas por grandes acúmulos de materia fundamental.

El volumen de las células no se presta, por su gran variabilidad, á una evaluación exacta; en general, oscila entre 10 y 30 milésimas. Las células más grandes son las endoteliales y las pavimentosas estratificadas; las más diminutas son las glandulares.

La forma varía todavía más que el volumen; lo que se explica

bien, recordando las diversas condiciones mesológicas á que las células epiteliales tienen que adecuarse. Así, la célula epidérmica, castigada de contínuo por las violencias del medio ambiente, influída por la desecación, etc., no puede tener la configuración del corpúsculo epitelial de la glándula ó del intestino, sometidos á más suaves rozamientos y constantemente lubrificados por líquidos de secreción. Estas condiciones mecánico-nutritivas imprimen á cada célula epitelial un sello característico, por el cual se puede venir siempre en conocimiento de la zona orgánica en que habita.

Las formas con que se presenta la célula epitelial son infinitas, y aunque en cada variedad epitelial obedecen á un tipo general, cabe afirmar que no existen dos formas rigurosamente iguales. Los tipos más esparcidos son: la forma *laminar,* la *prismática,* la *piramidal,* la *cúbica* y la *esferoidal.* Esta última es rarísima y sólo se observa en los corpúsculos jóvenes: la más común es la poliédrica irregular.

Estructura. En general, el corpúsculo epitelial reproduce la célula perfecta de Kölliker. Posee protoplasma, núcleo y cubierta. El protoplasma granuloso ó filamentoso es bastante abundante. El núcleo posee una red cromática espesa y las dos cubiertas cromática y acromática. Y en muchas células, particularmente en las del cuerpo de Malpigio, existe un nucleolo voluminoso, fácilmente colorable por el carmín y anilinas, que representa probablemente un grano de nucleina.

Entre las células epiteliales existe una materia transparente y tenaz que se llama el cemento. Esta substancia tiene la propiedad de reducir el nitrato de plata, bajo la acción de la luz, tomando un color negro parduzco. Semejante virtud reductora (que no poseen las células) se debe probablemente á la existencia, en la citada materia, de gran copia de albúmina y cloruro sódico, substancias que, en contacto con el nitrato de plata, forman cloruro y albuminato argéntico susceptibles de ennegrecerse enérgicamente bajo la influencia lumínica. Los demás agentes colorantes, á excepción del cloruro de oro, no tiñen los cementos. Los agentes aisladores, potasa, ácido nítrico al cuarto, alcohol al tercio, etc., los disuelven frecuentemente. En algunos epitelios, revela el nitrato de plata, de trecho en trecho, preferentemente en los puntos de convergencia de los ángulos de tres ó más células, unas manchas negras ó pardas, continuadas con

la línea negra del cemento, del que parecen excrecencias ó engrosamientos. Estos son los *estomas* de los histólogos, sobre cuya significación no se han fijado todavía las ideas.

Por lo demás, se comprenderá fácilmente que el cemento intercelular no gozará de las mismas propiedades en todas las formas epiteliales. Segregado por las células, su consistencia, elasticidad y cualidades químicas, variarán correlativamente á la diferenciación fisiológica de aquéllas. Así, el cemento malpigiano no se disuelve tan fácilmente por los ácidos como el intestinal; hay células que espontáneamente se disocian sin ayuda de reactivos (epitelio pavimentoso de la boca, ciertas células glandulares); y existen cementos tan tenaces que, en las maniobras de disociación con las agujas, antes se consigue desgarrar las células que separarlas por sus junturas.

f.—**Clasificación de los epitelios.** Casi todos los histólogos basan la clasificación de las variedades epiteliales en la consideración de la forma celular de una parte, y de otra en el hecho de la disposición estratificada ó no estratificada de aquéllas. Estas bases son aceptables, porque no prejuzgan la actividad funcional ni la textura de los corpúsculos epiteliales, problemas que no están del todo resueltos en la actualidad, y porque con ellos se reunen los epitelios en familias bastante afines, bajo el aspecto topográfico, genético y fisiológico. Con arreglo á estos principios, los epitelios se agrupan en: *aplanados ó pavimentosos* y en *cilíndricos ó prismáticos*. Cada grupo de éstos se divide en dos géneros: *no estratificados* ó de varias capas de células, y *estratificados* ó formados de una sola capa. Por último, dentro de cada género se establecen categorías según la diferenciación de las células epiteliales incluídas en él. Así el cilíndrico simple se divide en *cilíndrico con chapa y cilíndrico con pestañas,* división que alcanza también, en parte, al estratificado. El pavimentoso simple se separa también *en común y pigmentario,* etc. Ciertos histólogos establecen, á más de las clases citadas, basadas en la consideración de la forma, otras fundamentadas en la complejidad morfológica y en la existencia de formas de transición que ciertos epitelios ofrecen. De aquí, las agrupaciones *epitelios mixtos* y *epitelios de transición*.

No obstante ser la anterior clasificación una de las mejores, por obedecer

á un criterio estrictamente anatómico, no deja de tener algunos inconvenientes de monta. Estos proceden de que no existe casi ningún epitelio que solo comprenda células de un mismo tipo morfológico; todos son esencialmente polimórficos. Por ejemplo: en el llamado cilíndrico del intestino, si bien predomina la forma prismática, la hay poliédrica, cónica, y hasta esférica también. En los pavimentosos estratificados acontece lo propio. El epidermis, el epitelio bucal, conjuntival, etc., encierran células prismáticas en las capas inferiores, poliédricas en las capas medias y aplanadas en las superiores. No hay más que una variedad epitelial de forma constante, que es el endotelio, pues todos sus corpúsculos son membranosos.

Otro defecto de estas clasificaciones morfológicas nace de la irregularidad de las células, irreductibles casi siempre á un tipo geométrico conocido. Bajo este aspecto puede afirmarse que no hay más que una forma epitelial general, la poliédrica, más ó menos aproximada á las variedades tabla, prisma, pirámide, cubo, etc., cuyas formas regulares nunca se realizan exactamente. Las designaciones epitelio esférico, cónico, cilíndrico, etc., expresan conceptos equivocados.

Por estas razones, creemos que en una clasificación morfológica no debe entrar como base, sino un elemento de la forma, la dimensión preponderante. Cuanto más ensanchemos la comprensión de la base, menos riesgo tendremos de cometer inexactitudes. Así, sustituyendo á las designaciones, *aplanados, cilíndricos y poliédricos*, las palabras, *anchos, largos y cortos,* conservaremos todas las ventajas de la base, sin algunos de sus defectos. Y no decimos *sin defectos,* porque jamás podremos evitar el que resulta de la mezcla de diversos tipos morfológicos dentro de un mismo epitelio, como sucede en el caso ya citado del epidermis cutáneo y otros. Dentro del grupo de los anchos se contienen los endotelios; en el grupo de los largos, hállanse incluídos los cilíndricos, prismáticos, cónicos, etc., de otros autores; en el de los cortos, los epitelios glandulares, cuyas células son en su mayor parte cúbicas ó poliédricas. No quiere decirse con esto que todas las células incluídas en uno de estos grupos sean anchas, ó cortas, ó largas, sino que entre las formas comprendidas en la clase, predominan los referidos tipos.

En la ordenación de los géneros, podría aprovecharse el carácter de la estratificación, pero esto daría lugar á grandes irregularidades en la disposición de los mismos, y además no podría utilizarse con fruto mas que en el grupo de los epitelios aplanados. Entendemos que es preferible aplicar con tal objeto el principio de la diferenciación celular. Aunque no se conoce todo lo relativo á este punto, sabemos, por ejemplo, que las células aplanadas, unas veces están unidas directamente por filamentos de unión, y otras solamente enlazadas por cementos; entre las largas se conocen elementos cuya

cubierta está reforzada por una placa estriada, y células provistas en su faceta libre de un penacho de prolongaciones pestañosas, etc. Ahora bien; algunos de estos datos que dan carácter á una variedad epitelial, podrían aprovecharse con fruto en la distribución de los géneros y especies.

Hé aquí la clasificación:

Los epitelios constan de. . .	Células anchas	No anastomosadas.	—Variedad endotelial.
		Anastomosadas.. .	—Variedad tegumentaria.
	Células largas.	Con pestañas. . . .	—Variedad vibrátil.
		Sin pestañas. . . .	Variedad intestinal.
			Variedad pigmentaria.
	Células cortas.		—Variedad glandular.

CÉLULAS ANCHAS.

1.—**Variedad endotelial** *(epitelio pavimentoso simple)*. Esta forma, cuyas células poseen una disposición laminar ó membranosa, revisten la superficie de cavidades cerradas, y se engendran á expensas de elementos conjuntivos ó mesodérmicos.

Esta variedad es la que His calificó de endotelio, haciendo de ella una especie histológica distinta del epitelio. Y no dejan de existir razones de peso para fundamentar semejante disociación. Las principales son: 1.ª Los epitelios poseen células gruesas, ordinariamente poliédricas, con membrana y protoplasma bien claros y distintos; en tanto que los endotelios se forman de células excesivamente delgadas, en donde no puede distinguirse por su diafanidad, y quizás por el grado de transformación sufrida, ni la membrana ni el protoplasma. 2.ª Los epitelios son elementos activos, vivaces, esencialmente secretores ó constructores de principios inmediatos (fermentos, chapas, membranas, cementos, materia córnea, eleidina, etc.); los endotelios nada segregan ni producen; jamás albergan en su interior gránulos de inclusión, ni se rodean de chapas protectoras; su función es, ó parece ser, puramente mecánica; alisar las superficies de los órganos para suavizar los rozamientos. 3.ª La vida del epitelio es activa, como lo prueba la fugacidad de sus células sujetas á una constante renovación; la actividad del endotelio es casi

nula, sus células no se renuevan, ó al menos no se sabe cómo esta renovación tiene lugar, y los fenómenos de proliferación son extremadamente raros. 4.ª Los epitelios descienden, ó de la hoja interna ó de la externa del blastodermo; los endótelios dimanan de la hoja media, y hay razones para creer que se forman de células conjuntivas modificadas, pues entre la cavidad de las serosas, uniformemente revestidas de células aplanadas, y los espacios interfasciculares del tejido conjuntivo, también á trechos forrados por alguna célula conectiva aplanada, existen suaves transiciones (bolsas serosas profesionales).



Fig. 47.—Células epiteliales del mesenterio del conejo. Impregnación argéntica.

De todas estas consideraciones resulta que el endotelio ó epitelio pavimentoso simple de ciertos histólogos, ofrece un conjunto de caracteres propios suficiente á formar una variedad epitelial bien deslindada; mas como sus células están unidas directamente entre sí y revisten también superficies libres, rasgos comunes á los epitelios ordinarios, no hay motivo bastante para hacer del endotelio un tejido aparte, tanto más cuanto que también la hoja interna del blastodermo engendra elementos epiteliales planos (endotelio de las vesículas pulmonares), y el mesodermo verdaderos epitelios en el sentido morfológico y fisiológico de la palabra (células del ovario, peritoneo periovárico, células de los tubos seminíferos, etc.)

El endotelio tiene una *distribución* extensísima. Reviste la cámara anterior del ojo, los canales semicirculares y parte del laberinto del caracol, la superficie interna de todo el árbol circulatorio sanguíneo-linfático, las vesículas pulmonares, las serosas esplágnicas, las articulares, tendinosas y bolsas serosas profesionales.

Los endotelios están formados por la reunión de células excesi-

vamente delgadas, de una perfecta transparencia y sin apariencia granulosa ni reticular. A esta delgadez y diafanidad tan notables se debe que tales células hayan pasado mucho tiempo desapercibidas.

El espesor de estas células oscila entre 1 y 5 milésimas. Aumentan algo de grosor al nivel del núcleo por causa del volumen de éste. En general, las células que revisten partes deprimidas poco expuestas á roces y presiones, alcanzan mayor espesor que las que viven en opuestas condiciones. Por ejemplo: las partes del peritoneo diafragmático que se hunden en los espacios interfasciculares del centro frénico, están formadas de elementos más pequeños, gruesos y protoplasmáticos que las que tapizan las eminencias tendinosas. (Véase la fig. 49, a). Son notables por lo espesas las que revisten los plexos coroides del cerebro, y por lo delgadas, las células pleuríticas y peritoneales.



Fig. 48.—Epiplón mayor del conejo recién nacido impregnado con el nitrato de plata.

La estatura de las células endoteliales es de ordinario grande; oscila entre 22 y 40 μ.

Su *forma general* depende de la de los órganos á quienes revisten. Cuando éstos son delgados y cilíndricos, como sucede con los capilares y con las trabéculas conjuntivas del gran epiplón, las células se doblan y abarquillan, constituyendo segmentos de cilindro hueco más ó menos regulares. En los órganos de superficies suavemente curvas, la célula endotelial es aplanada y laminar.

La disposición de los bordes ofrece también variantes de importancia. La célula peritoneal, pleurítica, pericardiaca, etc., posee una configuración poligonal. Lo común es que tengan de cinco á siete lados, aunque no de igual extensión.

Las células vasculares muestran una forma romboidal, y sus ejes

mayores están dirigidos en el sentido de la corriente sanguínea. Esta forma es muy regular en las pequeñas arterias y venas (figura 50, A), ofreciendo unos ángulos extremos muy agudos; pero en el endotelio de los vasos más gruesos se modifica, truncándose los ángulos

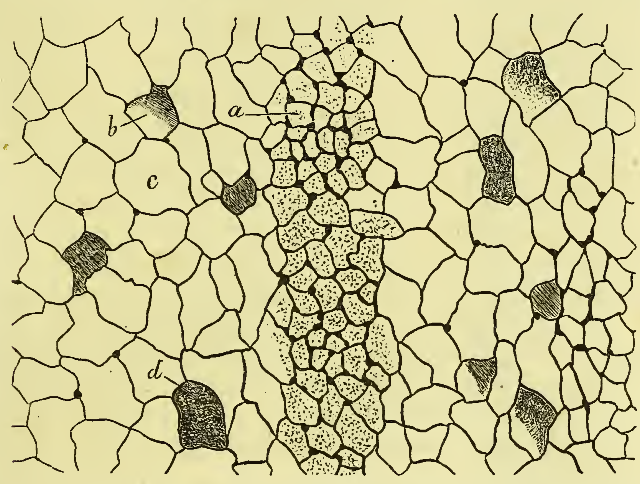


FIG. 49.—Cara peritoneal del centro frénico del conejo.—Impregnación argéntica; *a*, células más pequeñas separadas por una capa de cemento espesa é irregular: estos pequeños corpúsculos corresponden á las depresiones tendinosas del diafragma; *c*, células grandes situadas sobre los fascículos tendinosos salientes; *d*, células teñidas de un matiz moreno-obscuro por la plata; *b*, células semi-impregnadas.

agudos y adquiriendo una disposición exagonal (fig. 50, B). En el endotelio del corazón (endocardio) y capilares linfáticos, los bordes presentan una dirección excesivamente flexuosa, como dentellada, que recuerda las suturas craneales (fig. 50, C).

El protoplasma es transparente, finamente granuloso: en él no se distinguen ni retículo, ni inclusiones de ninguna clase. Carece también de vacuolas. El nitrato de plata le tiñe un poco en las impregnaciones prolongadas y produce en él precipitaciones de grumos que se ennegrecen á la luz.

En los vasos nótase muchas veces teñido el protoplasma de pardo claro, mas no los núcleos, que aparecen reservados en blanco (figura 50, b). Esto parece indicar que el núcleo es menos rico en cloruros que el protoplasma.

En las preparaciones débilmente argentadas del mesenterio, del centro frénico, etc., se ven al lado de células incoloras otras de una tinta parda, más ó menos intensa, bien en su totalidad, bien parcialmente (fig. 49, d). ¿Son estas células jóvenes más ricas en albúmina y en cloruros? Nada de cierto puede afirmarse sobre este particular, tanto más cuanto que estas diferencias celulares solamente las revela el nitrato argéntico.

El núcleo de los endotelios es, por lo común, discoide ó lenticular; su aplastamiento es paralelo al de la célula; tíñese bien por el carmín, verde metileno, violado de dalia, hematoxilina, pero siempre con menos intensidad que los núcleos de los demás epitelios. Enfocando una célula endotelial del mesenterio de la rana con el objetivo $\frac{1}{18}$ Zeiss, descúbrese una red cromática de hilos irregulares y como moniliformes, dirigidos casi todos transversalmente respecto del eje mayor del núcleo. No obstante, la palidez de estos hilos y su abundancia no permiten detallar bien su disposición. Es imposible descubrir una membrana acromática; en cambio, parece existir una cromática delgada; bien que esta apariencia podría explicarse también por la ilusión que produce la yuxtaposición de los hilos cromáticos en la periferia celular.

La existencia de *membrana* celular es discutible: los mejores aumentos no consienten percibirla.

El cemento de unión de las células constituye una línea flexuosa, de media á una μ de espesor, revelable correctamente por el nitrato argéntico. Nótase frecuentemente en las preparaciones nitratadas, con ayuda de objetivos de gran potencia, un aspecto estriado ó granuloso del cemento. Esta apariencia podría ser debida á la existencia de anastómosis celulares; pero no puede asegurarse, atendido á que ningún otro reactivo manifiesta semejante disposición. No obstante, el endotelio que tapiza la cara posterior de la córnea, cuando se le observa fresco y recién impregnado con el verde metileno, deja ver células cuyos bordes, retraídos bajo la influencia del reactivo, se juntan por prolongaciones filiformes. Estas prolongaciones se rompen por causa de la retracción exagerada que producen en estas delicadas células el picrocarminato y el nitrato de plata; y así se explica que no hayan sido percibidas por Swaen y Ranvier, que detenidamente han estudiado este epitelio.

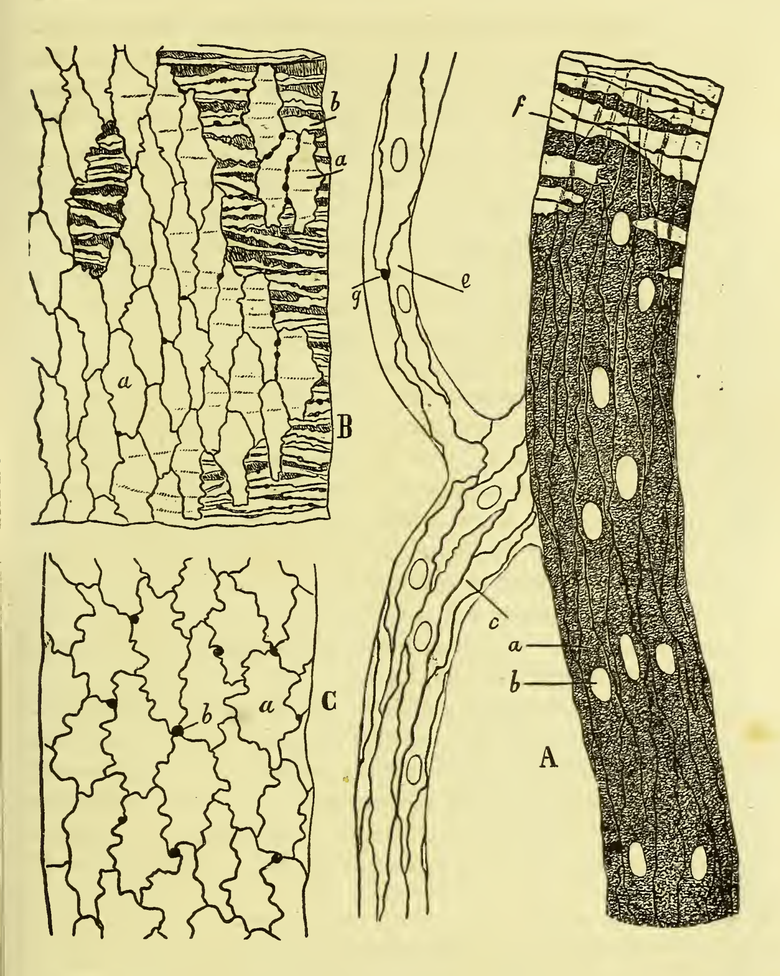


FIG. 50.—A. Pequeño capilar arterial del pulmón de la rana.—Impregnación argéntica: *a*, cuerpo celular enmorenecido por la plata; *b*, núcleo reservado en blanco; *c* y *e*, células endoteliales de unos capilares más diminutos; *f*, fibro-células que han sido impregnadas también; *g*, punto negro ó estoma de ciertos autores.

B. Endotelio impregnado de la vena cava superior del conejo; *a*, cuerpos celulares reservados en blanco; *b*, fibras musculares lisas que se han contorneado también por el reactivo en los puntos en que se desprendieron, por azar operatorio, las células endoteliales.

C. Endotelio de un capilar linfático del centro frénico del conejo; *a*, cuerpos celulares; *b*, estomas.

Ya anteriormente dijimos que el cemento de las serosas y capilares mostraba, en ciertos puntos, ensanchamientos ó manchas pardas que algunos estimaban como perforaciones de las paredes endoteliales. Por estas aberturas preformadas, se ha supuesto que emigraban los leucocitos en el proceso flegmásico para originar los elementos del pús y todas las células embrionarias que muestran abundantemente los tejidos flogoseados. A nuestro juicio, esta interpretación de los estomas de cemento es errónea. Aparte de que dificultades fisiológicas importantes obligan á rechazarla (el *plasma sanguinis* se extravasaría en el tejido conjuntivo y la circulación sería imposible), la nitratación, único recurso técnico que revela aquellas manchas, no dibuja aberturas reales, sino simples acúmulos de una materia continuada por el cemento, de cuyas propiedades físicas y químicas participa. Por otra parte, los estomas son tanto más numerosos, cuanto mayores han sido los estiramientos y zarandeos sufridos por la preparación impregnada. Cuando antes de impregnar un mesenterio de rana ó de conejo, se estira fuertemente en una sola dirección, se advierte que los estomas, algunos de inmensas proporciones, aparecen precisamente en los bordes celulares cuya dirección es perpendicular al sentido en que se ejecutaron las tracciones. Cuando los estiramientos son moderados, el cemento se dilata con desigualdad, tomando las líneas negras un aspecto arrosariado; pero si aquéllos son enérgicos, las células se separan y retraen, dejando al descubierto las superficies conjuntivas: en este último caso la plata impregna también los plasmas interorgánicos del tejido conectivo de un matiz pardo obscuro que parece continuarse con los bordes del cemento (1). Todo lo cual indica que los estomas no preexisten, sino que son resultado de las maniobras operatorias.

(1) Es notable, que al estirarse el cemento y entreabrirse las células, se produzcan siempre espacios negros arrosariados, como si la resistencia que el cemento ofrece á la ruptura y distensión fueran muy distintas en cada punto del borde celular. ¿Es que al nivel de las partes que se resisten al estiramiento hay anastomosis celulares como en el endotelio de la membrana de Descemet? Por lo demás, la opinión de que los endotelios están unidos por filamentos comunicantes, ha sido últimamente defendida por varios autores, particularmente por Kolossow (1892).

La impregnación argéntica cambia las condiciones físicas del cemento.

Las distensiones y traumatismos en una preparación impregnada, dan lugar á la separación de las células, no al nivel del cemento ennegrecido que permanece intacto, sino entre el protoplasma y aquél, aunque también la ruptura puede ocurrir según cualquiera de los diámetros de la célula.

Los vasos son también asiento de estas dilataciones, bien por causa exterior (traumatismos, estiramientos, como los que tienen lugar en el mesenterio de la rana, en la experiencia de Cohnheim), bien por causa interior (tensión sanguínea exagerada). La distensión puede llegar á despegar en parte las células endoteliales, produciéndose una verdadera hemorragia lenta, fenómeno que puede complicar la inflamación, pero que no es condición necesaria de la misma.

Variedad epitelial tegumentaria. Esta variedad reviste todas las partes sometidas á roces y presiones considerables. Encuéntrasela por tanto en la piel, constituyendo una membrana de gran espesor (el epidermis), en la conjuntiva, en los puntos y conductos lagrimales, en las aberturas nasal y bucal, en la mucosa de la boca, faringe, exófago, en las cuerdas vocales inferiores, en la uretra, vejiga urinaria y mucosa de los órganos genitales externos del hombre y de la mujer, excepto el útero, las trompas y el ovario. Hállase igualmente, en delgados estratos, en el oído medio, y, en opinión de Henle, en la cara interna de la dura madre. Esta variedad epitelial consta siempre de varias capas de células poliédricas aplanadas. *El número* de capas guarda relación con la intensidad de las presiones y traumatismos á que se halla expuesto el epitelio, y con la rapidez de la multiplicación y renovación celular.

La *forma* de las células, aunque aplanada comunmente, puede alcanzar todos los tipos morfológicos anteriormente expuestos. En tesis general, cabe afirmar que el espesor de las células disminuye desde las capas profundas á las superficiales. Por ejemplo: en la capa epitelial más honda del epidermis cutáneo, los elementos son alargados, ya piramidales, ya prismáticos. Los estratos subsiguientes muestran células poliédricas irregulares. En las células que moran entre el epidermis córneo y cuerpo malpigiano, la forma poliédrica sufre un cierto aplanamiento que llega al *summum* en el epitelio córneo, región más superficial del epidermis, donde los corpúsculos parecen verdaderas escamas. (Véase fig. 51.)

La magnitud de las células varía también en los diversos estratos de un mismo epitelio. Por causa del aplanamiento del protoplasma y quizás también por virtud de los nuevos principios inmediatos (keratina) que sobrecargan el cuerpo celular, los corpúsculos más superficiales poseen una talla y un volumen mayores que los pro-

fundos. Así, una célula malpigiana tiene una estatura de 13 á 16 μ y una del epidermis córneo de 30 á 40 μ; un corpúsculo superficial del epidermis lingual alcanza una longitud de 40 μ y otro profundo de 12 á 15 μ.

La estructura celular puede estudiarse bien en las células profundas, pero no en las superficiales, cuyas partes son asiento de un proceso de desorganización llamado keratinización, que destruye la textura celular.

El protoplasma es turbio, opaco en los corpúsculos inmediatos al dermis, algo más claro en los próximos al epidermis y absolutamente diáfano en los de éste.

Esta turbidez del protoplasma de las células profundas, se debe en gran parte á la refringencia de unas granulaciones, de forma oval ó circular, dispuestas por grupos y yacentes en la periferia del protoplasma. La aplicación de poderosos objetivos de inmersión homogénea, demuestra que todos estos puntos brillantes corresponden á las secciones ópticas de los hilos de comunicación establecida entre células vecinas á través del cemento de unión. Dichos hilos penetran en el protoplasma, y cruzándole en varias direcciones constituyen el retículo celular, cuyos caracteres dominantes son un cierto paralelismo de sus hebras y la ausencia de anastomosis.

En los corpúsculos epiteliales más pequeños del cuerpo de Malpigio, los hilos muestran una dirección divergente, pareciendo pasar por fuera del núcleo y atravesar la célula por uno de sus diámetros mayores, para continuarse con el retículo de las células del lado opuesto. Sin embargo, en las células gigantes del epitelioma del labio revélase una disposición más complicada (fig. 52, B): los hilos que llegan á las células penetran en el protoplasma de un modo flexuoso, y constituyen, acumulándose cerca del núcleo, una capa apretada de fibras, cuya dirección es arqueada. Entre esta capa de filamentos y el núcleo, queda un espacio claro, sin armazón, que parece componerse de jugo celular.

Según Ranvier, cada hilo de unión intercelular es la prolongación de un filamento del retículo protoplasmático. Esta es también nuestra opinión y la de la mayor parte de los autores. Pero como cada hilo se espesa al emerger de la célula, es preciso admitir que no contiene solamente un filamento del retículo. Según Ranvier, el

trayecto extracelular estaría forrado por una capa de protoplasma. En nuestro sentir (y esta opinión ha sido confirmada por Ide, Kromayer), lo que engrosaría el puente intercelular sería una emanación de la membrana celular.

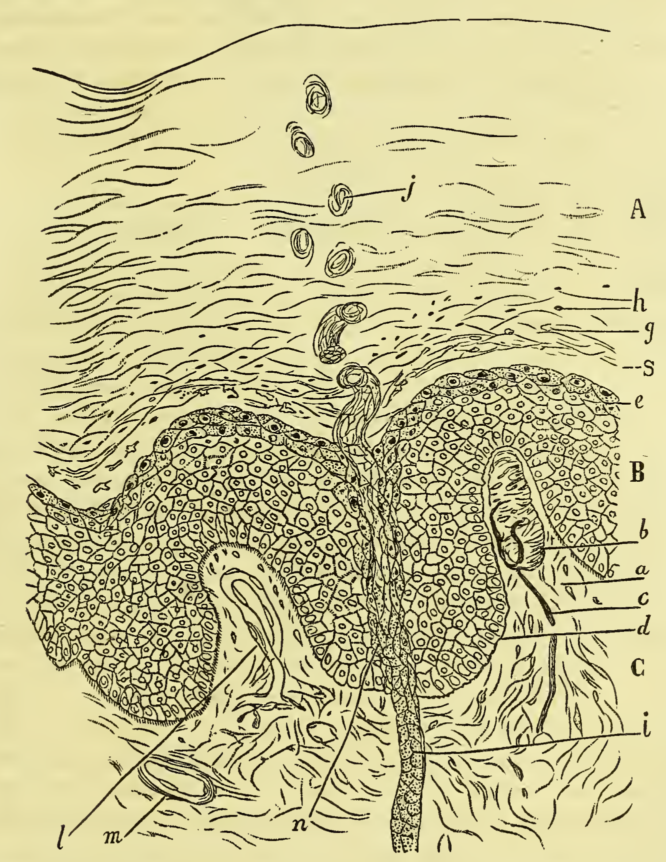


FIG. 51.—Corte vertical de la piel de un dedo.—A, Capa córnea del epidermis. S, *Stratum lucidum:* en él se ven á la izquierda algunas vacuolas irregulares; *g,* células aplastadas de contornos muy vagos, y á trechos imperceptibles; *h,* granos brillantes de la capa córnea; *j,* sección de las vueltas de espira de una glándula sudorípara, durante su itinerario por la capa córnea.

B. Cuerpo de Malpigio ó epidermis mucoso. *e, Stratum granulosum* de la piel, cuyas células tienen granos fuertemente teñidos rodeados de un vacío ó vacuola nuclear.

C. Dermis de la piel donde se advierten dos papilas: una nerviosa con un corpúsculo de Meisner; y otra vascular, que aloja un capilar; *d,* células prismáticas del fondo del epidermis; *n,* células análogas á las del *Stratum granulosum* que acompañan al conducto excretor sudoríparo.

La continuidad individual de los hilos de unión con los del retículo se confirma plenamente en las células epidérmicas superficiales de las larvas de *salamandra maculosa*. En estas células descúbrese una red correctísima de fibras que dejan espacios poligonales (figura 52, A) estrechos, llenos de una materia interfibrilar sumamente diáfana; de la periferia de la red salen hilos paralelos del mismo grueso, que la ponen en comunicación con el protoplasma de las vecinas células. Esta construcción aparece también, aunque modificada y mucho menos evidente, en los corpúsculos profundos del epidermis de la salamandra.

Las investigaciones con fuertes aumentos, permiten comprobar también redes en los corpúsculos profundos del epitelio estratificado de las mucosas y descubrir igualmente hilos ó puentes de comunicación entre las células. Esta disposición es clarísima en el epitelio lingual del conejo (fig. 52, D), en la conjuntiva palpebral y epitelio gingival del hombre; pero es mucho menos evidente, á consecuencia de la cortedad de los hilos y del poco contraste en los índices de éstos y el cemento, en el córnea del hombre y mamíferos. Con todo, hay parajes en que se la descubre con bastante claridad. En la córnea de la rana, nuestras tentativas han sido infructuosas: bajo las mejores condiciones sólo se descubren ciertas irregularidades del cemento, como estriaciones desiguales, que no nos atreveríamos á estimar por hebras de comunicación. (Fig. 52, E.)

El *núcleo* de las células aplanadas estratificadas posee membrana acromática, cubierta cromática y una red irregular de nucleína con pedazos sueltos, que son los nucleolos. Las células epidérmicas profundas son ricas en cromatina; pero conforme se van haciendo superficiales, pierden esta substancia, faltando por completo en las epidérmicas córneas. Muchas células, con especialidad las profundas, contienen un nucleolo que parece ser de los verdaderos, pues que se tiñe mal por la hematoxilina y violeta de dalia, y algo mejor por el carmín y zafranina. Este corpúsculo parece homogéneo ó contiene algunas vacuolas (fig. 52, B, C). En la zona más superficial del cuerpo de Malpigio (capa granulosa de los autores), el núcleo contiene un grueso gránulo que se colora fuertemente por el carmín. Además, el protoplasma contiene numerosos granos de una substancia especial ávida del carmín y de las anilinas, que Ranvier califica

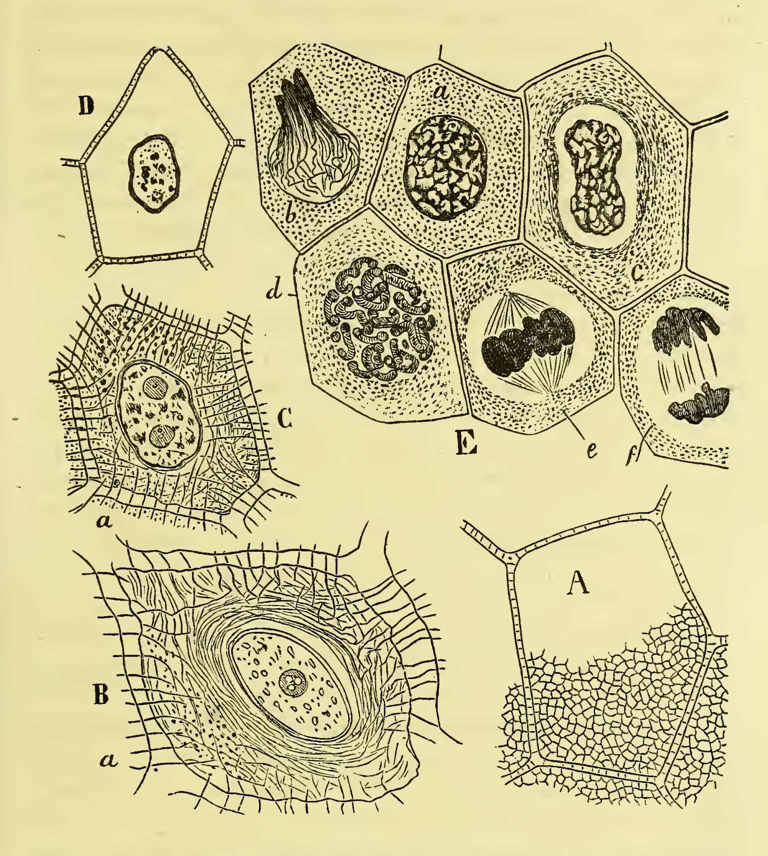


Fig. 52.—A. Célula superficial del epidermis de una larva de salamandra maculosa, en la cual se percibe un correcto retículo que se continúa con el de las células vecinas por medio de anastomosis escaleriformes.

B. Célula gigante de un epitelioma del labio inferior del hombre. Nótanse en *a* los hilos de comunicación que, una vez cerca del núcleo, constituyen una zona de hebras concéntricas. En un lado del protoplasma aparece un punteado que corresponde á los hilos comunicantes seccionados transversalmente.

C. Célula del cuerpo de Malpigio de la piel. Vense en *a* las hebras anastomóticas que parecen converger al núcleo y continuarse con las del lado opuesto.

D. Una célula profunda del epitelio lingual del conejo. En su periferia se notan finos puentes de comunicación con los corpúsculos vecinos.

E. Células del epitelio corneal anterior de la rana, en las que se demuestra la textura nuclear y se advierten fenómenos de partición directa é indirecta.

de *eleidina (keratohialina,* de Waldeyer). Estos granitos faltan en la inmediación de la cubierta y yacen en las mallas de una red muy refringente constituída al parecer de keratina. Según Waldeyer, que ha estudiado minuciosamente la eleidina, no se trataría, como asegura Ranvier, de una substancia líquida, sino de un material sólido insoluble en agua, éter, alcohol, amoníaco y ácido acético, pero soluble en potasa cáustica, ácido nítrico y clorhídrico. Esta substancia estaría muy próxima á la materia *hialina* de Reclinghaussen.

Las células superficiales del epidermis cutáneo carecen de núcleo, poseen un protoplasma excesivamente diáfano, en su totalidad construído de keratina, y están trabadas por un cemento de unión incoherente y frágil, que permite la espontánea delaminación y caída de las células. Las superficiales de las mucosas son también muy diáfanas, y exhiben: un protoplasma homogéneo sembrado, especialmente cerca del núcleo, de granos brillantes, irregulares, de tamaño vario, resto quizás del retículo celular, y un núcleo visible sin ayuda de reactivos, de forma lenticular, provisto, por lo común, de una membrana cromática y de una red irregular de nucleina. Estos núcleos son tanto más aplastados y tanto más incolorables por los reactivos del núcleo, cuanto más superficiales.

La unión de la última capa epitelial con el tejido conjuntivo subyacente tiene lugar á favor de una materia transparente ligeramente estriada, continuada con el tejido conjuntivo, de cuyas propiedades participa. Esta capa se muestra bien limitada y con apariencia cristalina en ciertos parajes, por ejemplo: en la unión del epitelio corneal anterior con el estrato conjuntivo de este órgano, donde constituye la membrana basal ó elástica anterior.

La unión de las células con dicha capa basal tiene lugar por superficies ásperas, á veces dentelladas. En la piel, los más profundos corpúsculos malpigianos ofrecen unas proyecciones como digitales que ingresan en el tejido conjuntivo. Frecuentemente, estas prolongaciones son finas, apretadas, y pasan por tan suaves gradaciones al unirse al tejido conjuntivo, que se diría existe continuidad entre los hilos del protoplasma y las hebras de los fascículos.

Finalmente, las células más profundas del epitelio de la piel de los negros y de los sujetos de piel morena, albergan en su protoplasma unas granulaciones amarillentas ó pardas constituídas por la

melanina. En sentir de Frey, el color moreno de la piel se debe también á la existencia de melanina disuelta y esparcida, tanto en el núcleo como en el protoplasma. Las investigaciones más recientes de Kölliker, Kerbert, Kiehl, Aebi, Karg, etc., autorizan la conclusión de que las células pigmentarias yacentes en el cuerpo de Malpigio no son otra cosa que corpúsculos conectivos pigmentados, que se habrían insinuado en los intestinos epiteliales. Esto aparece muy claramente, según Kölliker, en la piel del gorila.

EPITELIOS ALARGADOS (CILÍNDRICOS Y PRISMÁTICOS DE LOS AUTORES).

Forman revestimientos, generalmente de una sola capa, en casi todas las formaciones del entodermo, á saber: el intestino desde el cardias hasta su terminación, los conductos excretores de las glándulas digestivas (pépsicas, intestinales, conducto coledoco, pancreático, etc.), gran parte del árbol aéreo, fosas nasales, órganos genitales internos de la mujer y del hombre, y algunos conductos excretores de glándulas cutáneas, como son los galactóforos y lagrimales.

Esta variedad ofrece células alargadas, comunmente prismáticas, con cinco á siete facetas, íntimamente unidas á las de las otras células por escasa cantidad de cemento.

La dirección de estos elementos es perpendicular á la superficie de la mucosa que recubren. Vistos por el extremo libre, aparecen constituyendo un elegante mosáico formado de campos poligonales circunscritos por lados rectilíneos. La forma y extensión de este pavimento alcanza más regularidad que el mosaico de los endotelios.

La estructura es la de las células perfectas. Poseen membrana muy ténue, siempre reforzada en la superficie libre de la célula, protoplasma granuloso, á veces claramente reticulado, y un núcleo esferoidal, pero más comunmente elipsoideo ú ovalado, situado más cerca del extremo inferior que del superior de la célula, bien que sobre esto existen grandes variaciones. Dicho núcleo es vesiculoso y contiene gránulos y redes de cromatina.

Según Hatschek, las células alargadas ofrecen una cierta polarización funcional. El extremo profundo es alimenticio, mientras el

superficial es secretor. Esta polaridad se conserva hasta en aquellos órganos en que el epitelio alargado ha experimentado grandes transformaciones, por ejemplo: en los conos y bastones de la retina, en las fibras del cristalino, etc.

Variedad intestinal.—A. *Epitelio con chapa.* En el intestino delgado, sobre las vellosidades mismas y en los conductos excretores biliares, se ven unas células prismáticas, que ofrecen la particulari-

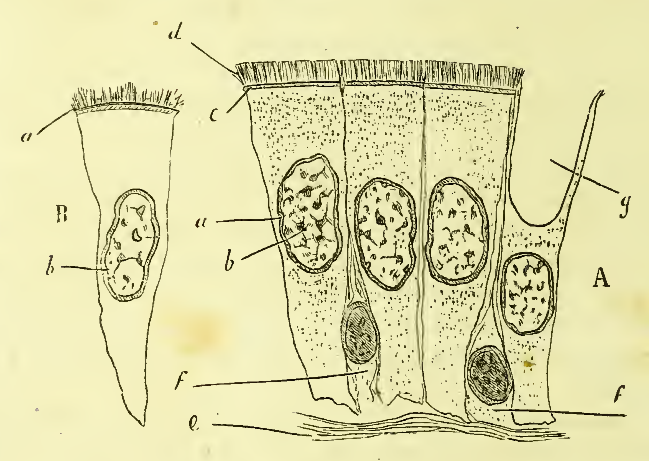


Fig. 53.—A, Células prismáticas del epitelio que recubre las vellosidades intestinales del conejo examinadas á fuertes aumentos (1800 d.) Coloración á la hematoxilina.—*a,* membrana cromática del núcleo; *b,* red cromática discontinua; *c,* capa superficial más colorable del cuerpo celular; *d,* chapa estriada formada de aglomeraciones de bastoncitos; *e,* capa basal; *f,* pequeña célula con un núcleo fuertemente teñido; *g,* hueco de una célula caliciforme.

B, célula intestinal aislada y alterada por la maceración en el mismo liquido del intestino; *a,* chapa descompuesta en bastoncitos de varia longitud; *b,* cubierta cromática del núcleo.

dad de hallarse provistas, en su superficie libre, de una corteza protectora llamada chapa ó placa perforada. (Véase fig. 53.)

Estas células poseen: un cuerpo prismático con su núcleo situado á diferentes alturas dentro del protoplasma; y dos extremidades, una libre ó intestinal, y otra adherente ó conjuntiva.

Esta última puede ser plana ó ligeramente desigual; pero frecuentemente termina en punta, dando á la célula un aspecto piramidal. Esta extremidad descansa en una capa conjuntiva sin núcleos, de aspecto estriado, que semeja á una membrana basal; bien

que la textura fibrilar de esta zona indica que es una condensación del tejido conectivo colindante. Entre los extremos profundos, se ven, en ocasiones, unas células más pequeñas con poco protoplasma, con núcleo voluminoso y rico en nucleina. Estas células son probablemente leucocitos emigrantes. (Fig. 53, f.)

El extremo superior ó intestinal termina en una cara plana y correctamente limitada. Con objetivos suficientes se advierte que dicha cara está guarnecida por una lámina gruesa, de 2 á 3 milésimas de espesor, transparente como la materia córnea y con un aspecto estriado característico. Estas estriaciones son apretadas, paralelas y atraviesan perpendicularmente todo el espesor de la chapa. La adherencia entre la cara inferior de la chapa y la célula es floja: la menor violencia la desprende. Por el contrario, la adhesión de los bordes de las chapas entre sí es enérgica, como lo prueba la frecuente observación de células, cuyas chapas desprendidas forman un todo contínuo. Con todo, estas adherencias no implican continuidad morfológica; siempre cabe descubrir con un buen objetivo el límite periférico de cada chapa.

Las estriaciones de la chapa se han interpretado por algunos histólogos como conductitos que pondrían en comunicación la célula con el interior del intestino; interpretación muy cómoda para explicar el mecanismo de la absorción. Otros han supuesto que las tales estriaciones son cilindros de una materia menos refringente, expansión del protoplasma que atraviesa la mencionada chapa. Nosotros hemos examinado repetidas veces estas chapas en el gato, en el conejo y en la rana, bien en preparaciones frescas, bien en las induradas y teñidas, ayudándonos de objetivos al aceite y trabajando sobre cortes excesivamente delgados. En todas las preparaciones, pero especialmente en las procedentes de las vellosidades intestinales del conejo, nos ha sorprendido el mismo aspecto, no de conductos, sino de espacios ó rajas que atravesando toda la chapa la fragmentan en multitud de hilos excesivamente finos. Finalmente, el aspecto es el de un penacho de pestañas insertas en la membrana celular y unidas entre sí por una materia menos refringente, y fácilmente soluble por maceración en agua y en los jugos intestinales. La apariencia fibrilar es muy evidente en las células epiteliales desprendidas y semidigeridas que muestra el intestino de un animal recién sacrificado: en estas células la chapa semi-destruída se compone de multitud de bastoncitos aislados, de varia longitud, por consecuencia de las fracturas y arrancamientos que en aquellas han tenido lugar.

Para que la analogía con el corpúsculo vibrátil sea mayor, percíbese asimismo, debajo del penacho de bastoncitos, una capa granulosa, colorable por el carmín y por las anilinas, que sirve de superficie de implantación á la chapa y de barrera de separación entre ésta y el protoplasma (fig. 53, A, c). Aunque muy semejante, no nos parece idéntica esta capa, á la que existe por debajo de las pestañas del epitelio vibrátil. Su propiedad de teñirse por los reactivos del núcleo la separan abiertamente de las membranas celulares. Además, su aspecto granuloso é irregular la aproximan al protoplasma, del que probablemente es simple condensación superficial. No es posible afirmar si existe continuidad entre el retículo del protoplasma y los bastoncitos de la chapa.

Según Schiefferdecker, los filamentos de la chapa se engruesan cerca de la cubierta celular, y se continúan con los hilos del retículo protoplasmático.

Según Tornier, Schiefferdecker el epitelio de las glándulas de Lieberkuhn, el de las glándulas tubulosas del estómago, el de los tubos flexuosos del riñón, estaría revestido en su cara libre por una especie de chapa compuesta de hilos á la manera de los de un cepillo, que tendrían la singularidad de caer durante el reposo, y de regenerarse durante la secreción.

El protoplasma de las células intestinales visto con el objetivo $^1/_{18}$ Z. muestra un retículo apretado más aparente en el cabo superficial que en el profundo de las células. El núcleo es voluminoso, y contiene una cubierta de nucleina y una red varicosa y discontinua. No existen nucleolos verdaderos.

B.—*Células caliciformes*.—Entre los elementos prismáticos del intestino yacen, también repartidos con cierta desigualdad, unos corpúsculos ahuecados, que han recibido, por su especial disposición, la designación de caliciformes (fig. 54, B).

La forma de estas células es cónica, con vértice profundo y base superficial: de ordinario el ecuador es más ancho que los polos ó extremos. Poseen una membrana muy distinta perforada, en la cara superficial del corpúsculo, por un agujero ancho y redondo; un protoplasma granuloso, como reticulado, acumulado exclusivamente en la extremidad profunda de la célula, y un núcleo confinado en esta misma extremidad y envuelto por escasa cantidad de protoplasma.

El hueco del protoplasma está limitado por una línea desigual y

granulosa; y unas veces se le ve vacío y otras lleno de una substancia viscosa, comparable con la mucina que se vierte en el intestino por la abertura redondeada que ofrece la cara libre de la célula. (Fig. 54, B. *a.*)

Cuando se impregna por el nitrato de plata el epitelio del intestino delgado, aparecen, á más de los campos poligonales limitados por líneas negras que corresponden á las junturas de los extremos de las células cilíndricas, unas manchas redondeadas y blancas, contorneadas por una línea un poco negra, áspera y desigual. Estas manchas son los extremos de las células caliciformes que, por ser huecos, no han sido teñidos por el reactivo (la superficie general del epitelio adquiere un color moreno). Enfocando el epitelio en un plano más profundo que el de la superficie libre, aparece en torno de los espacios incoloros otro contorno más vago, concéntrico al anterior, que marca el ensanchamiento de las células caliciformes al nivel de su parte ecuatorial (fig. 55).

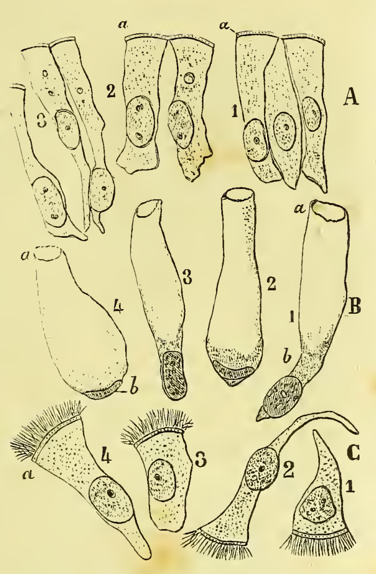


Fig. 54.—Células epiteliales alargadas de la rana, aisladas por el alcohol al tercio y teñidas por el picrocarminato.

A. Células epiteliales con chapa del intestino; 1, tres células unidas; 2, células de chapa común; 3, células irregulares y delgadas.

B. Células caliciformes del exófago; *a*, embocadura de la cavidad protoplasmática; *b*, fondo celular donde yace el núcleo y un poco de protoplasma.

C. Células vibrátiles del exófago; *a*, placa estriada de donde emergen las pestañas.

Las células caliciformes se han considerado, por unos, como glándulas mucosas monocelulares; por otros, como elementos prismáticos caducos degenerados que han de ser reemplazados por otros jóvenes y robustos. Según Stöhr, representarían simplemente el estado de actividad secretoria de las células epiteliales. Los corpúsculos intestinales ordinarios representarían células en descanso.

Variedad vibrátil. Es una forma de epitelio alargado, muy se-

mejante á la anteriormente descrita, sólo que, en vez de ofrecer en la cara libre de las células una chapa, posee un pincel de filamentos á manera de pestañas, que gozan de movimientos espontáneos durante la vida. Preséntase esta variedad, ora constituyendo una sola capa, ora varias. En este último caso, solamente la capa más superficial de células está provista de pestañas. (Fig. 54, C.)

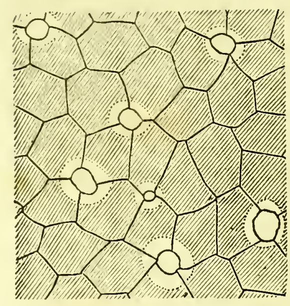


Fig. 55.—Células prismáticas del intestino delgado de la rana impregnadas y vistas por su cara libre. Obsérvanse ciertos espacios blancos y redondos, que son los orificios de las células caliciformes.

El epitelio vibrátil hállase esparcido por las cavidades interiores en contácto con el aire, como las fosas nasales, la trompa de Eustaquio y el árbol respiratorio, exceptuando las cuerdas vocales inferiores y los canalículos y vesículas pulmonares que lo tienen aplanado. Reviste también las cavidades ó conductos excretorios de las glándulas genitales, como los vasos eferentes, conos seminíferos, epidídimo y conductos deferentes del hombre y las trompas y cavidad uterina de la mujer.

Por excepción, aparece también el epitelio vibrátil en ciertos puntos de las serosas, por ejemplo: en el peritoneo de la rana hembra.

La *forma* de las células es prismática en los elementos superficiales; pero los profundos de los estratificados pueden presentar formas ovoideas, cónicas y hasta poliédricas. En todas el eje mayor es perpendicular á la superficie que recubren.

La extremidad profunda suele ser más delgada que la superficial, y á menudo puntiaguda y hasta ramificada: ingiérese entre las células de las capas subsiguientes en la variedad estratificada; en las vibrátiles de una sola capa, la extremidad es más gruesa y aplanada y se apoya sobre una capa conjuntiva basal.

La extremidad superficial es aplanada y ofrece, vista de perfil, una chapa y un haz de prolongaciones pestañosas. La chapa es delgada, refringente y plana; está situada entre el protoplasma y el pincel de pestañas, y exhibe, cuando se la enfoca cuidadosamente con un objetivo fuerte, unas estriaciones paralelas dirigidas en el sentido

del eje celular, que parecen continuarse con las pestañas. (Figura 56, d.)

Las pestañas son unos hilos finísimos de menos de media milésima de gruesos, por cinco ó más de longitud: su número es difícil de contar en las células, pero seguramente pasa de 40 ó 50. No puede apreciarse si son más gruesas en su arranque que en su terminación; por lo cual, la forma cónica con que ciertos histólogos las representan, se nos antoja un tanto esquemática. Estas prolongaciones son extraordinariamente alterables, destruyéndose algunas horas después de la muerte en los animales de sangre caliente. En los de sangre fría se las puede conservar vivas algunos días en cámara húmeda, prendidas de un bloque de tejido epitelial.

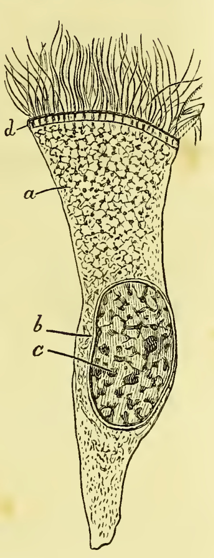


Fig. 56.—Célula vibrátil del exófago de la rana. Disociación por el alcohol al tercio. Coloración al picrocarmín. Examen con el ob. 1/18 de Zeiss. ocul. 5. A.= 2050 d. *a*, retículo protoplasmático; *b*, membrana nuclear; *c*, red irregular y fragmentada de cromatina; *d*, chapa atravesada por la base de las pestañas.

Las conexiones de las pestañas con el protoplasma son difíciles de percibir en las células ciliadas de los mamíferos. En los batracios se define mejor esta relación. Observando con un fuerte objetivo de inmersión homogénea una célula epitelial procedente del exófago de la rana (previo aislamiento en el alcohol al tercio), se advierte una red de nudos gruesos y de mallas estrechas en todo el protoplasma, particularmente en el segmento celular situado entre el núcleo y la chapa. No existe dirección predominante en la disposición de la red, á pesar de lo que asegura Klein, que dibuja el retículo como una rejilla, cuyos tallos principales están dirigidos longitudinalmente. En cambio juzgamos muy probable, en concordancia con la opinión de este histólogo, que los hilos del retículo se continúan, pasando á través de la chapa, con las pestañas vibrátiles. La figura 56 representa una célula epitelial del exófago de la rana, que dejaba percibir con bastante claridad esa disposición.

La continuidad de las pestañas con el retículo tiende á aceptarse por los autores (Nusbaum, Engelman, Schiefferdecker). Engelman señala la existencia, en el protoplasma de algunas células pestañosas (rana, anodonta, etc.), de un hacecillo fibrilar, que convergería en el cabo inferior del corpúsculo, continuándose por arriba con las pestañas. Estas mismas exhibirían varios segmentos de grosor diferente: el asta, bulbo, el pie, etc. En cuanto á nosotros, no hemos podido comprobar estas disposiciones complicadas.

Variedad pigmentaria.—La superficie interna de la coroides del globo ocular, ofrece una capa de células más ó menos alargadas, según las especies animales en que se estudien (fig. 57), cuyo carácter culminante estriba en la presencia, dentro del protoplasma, de gran número de granos de melanina.

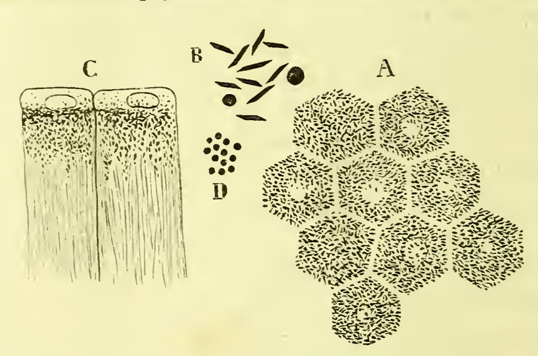


Fig. 57.—A, células pigmentarias de la retina del cordero vistas de frente.

B, cristales de melanina de la preparación anterior disociados: entre ellos se ven algunas esferas melánicas. Amplificación: 2.050 d.

C, células pigmentarias de la retina vistas de perfil: en sus exiremos anteriores se ven prolongaciones filiformes que penetran entre los bastoncitos y conos.

D, granulaciones de melanina de las células conjuntivas de la coroides vistas con 2.000 diám. de amplificación.

Cuando estas células se ven de frente (fig. 57, A), se nos presentan dispuestas en elegante mosáico; los cuerpos celulares son exagonales, y destacan por su color moreno obscuro ó negro sobre las líneas de cemento, que son incoloras. El núcleo se descubre ordinariamente como un punto del pròtoplasma desprovisto de melanina. Entre las células exagonales se ven algunas con siete y ocho lados. Por lo común, tales elementos contienen dos núcleos y representan fases segmentatorias.

Vistas de perfil en buenos cortes de la retina con la coroides, échanse de ver en el cuerpo celular tres zonas: una más externa

clara, sin melanina, portadora del núcleo; otra obscura intermedia, que aloja los granos del pigmento; y otra clara asimismo, formada por multitud de apéndices paralelos del protoplasma que se insinúan entre los conos y bastoncitos de la retina. En la rana, en la salamandra maculosa, etc., estas prolongaciones llevan también corpúsculos melánicos, de modo que, cada cono y bastoncito, puede decirse que está rodeado de una capa negra absorbente de las ondas luminosas.

Los gránulos de melanina parecen esféricos á medianos aumentos; pero si se les examina con una amplificación de 2.000, y á favor de un poderoso concentrador (Abbe), se advierte que son alargados y de una forma de tabla romboidal. Los cristales de melanina de las células pigmentarias del cordero, del buey, etc., alcanzan una longitud de milésima y media por unas tres décimas de milésima de espesor. Poco menores son los de la rana y salamandra. (Fig. 57, B.)

Cosa digna de notarse: solamente los gránulos pigmentarios de la retina son de forma cristalina; los de las células conjuntivas de la coroides y los que encierran todos los demás corpúsculos pigmentarios, presentan forma esferoidal. Por excepción, se advierten también entre los gránulos cristalinos del epitelio retiniano, algunos esferoidales gruesos.

CÉLULAS CORTAS.

Aunque tales células pueden hallarse en otras variedades epiteliales, vense principalmente en las glándulas, cuya parte secretora revisten. Acumúlanse, de ordinario, en una sola capa de elementos, en contacto recíproco por sus caras laterales, y unidos por un cemento menos resistente que el que traba las células de otros epitelios. Por su cara superficial limitan la cavidad glandular, donde forman un pavimento poligonal; y por la profunda se implantan sobre la membrana basal ó elástica, representante del esqueleto de la glándula.

Poseen estas células los caracteres estructurales de que anteriormente hicimos mérito, con motivo de la descripción de otras especies; mas se distinguen de las demás razas epiteliales por su

forma cuboidea ó poliédrica corta, por carecer de chapa y de cubierta aislable, y por contener en el protoplasma granulaciones de principios inmediatos segregados. (Véase más adelante el sistema glandular.)

Caracteres químicos de los epitelios. Las células epiteliales jóvenes habitantes en las capas profundas de la piel y de las mucosas, así como los corpúsculos endoteliales, ofrecen la composición química general de la célula. Si existen diferencias de composición, nuestros procederes analíticos son demasiado poco sensibles para denunciarlas.

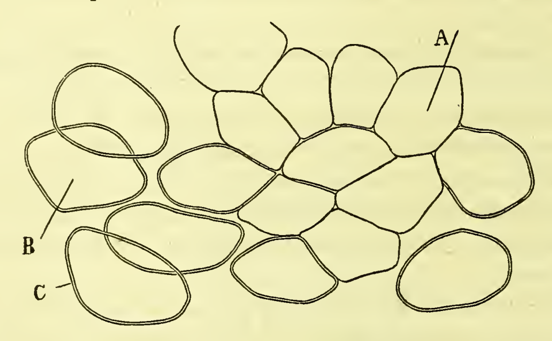


Fig. 58.—Células epidérmicas de la piel tratadas por la potasa. A, células unidas; B, disociadas, C, membrana celular.

En las capas superficiales del epidermis y sus producciones análogas, las uñas y pelos, hállase una substancia especial, la *keratina,* producto histogenético caracterizado por su disolución en los álcalis, su inalterabilidad en el ácido acético, su hinchazón en el sulfúrico y su irreductibilidad por la cocción. Cuando las células córneas se tratan por la potasa, se hinchan, adquieren forma globulosa y se disocian, concluyendo por disolverse en el reactivo. Antes de que esto sobrevenga, las células alcanzan una transparencia y homogeneidad notables, contorneándose de una membrana anhista, correctamente visible (fig. 58, C). Este mismo tratamiento revela en las células córneas de las uñas, la existencia de un núcleo ó de sus vestigios.

Otra de las materias elaboradas por los epitelios, es la *melanina,* substancia muy fija, de color negro café, cristalizada, insoluble en el

agua, éter y alcohol, pero soluble después de largo tiempo de acción, en la potasa y el ácido nítrico.

Propiedades fisiológicas de los epitelios. Bajo el punto de vista fisiológico, cabe dividir los epitelios como lo hacen Küs y Duval, en tres categorías: epitelios de *absorción*, de *secreción* y de *protección*, á los que podría agregarse una cuarta, epitelios de *relación* ó *neuro-epitelios*, que se consideran comunmente dependencia del sistema nervioso (células sensoriales de la mucosa olfatoria y gustativa, células del órgano de Corti y crestas auditivas, bastoncitos y conos retinianos).

Los epitelios de *absorción* habitan en los confines del mundo exterior, y están especialmente organizados para determinar corrientes de entrada de las materias alimenticias. La máquina especial, por cuya virtud el protoplasma de la célula intestinal se apodera y modifica los principios inmediatos solubles (peptonas) é insolubles (grasas), es desconocida. Lo que sí puede afirmarse es que el acto de la absorción es un fenómeno vital enlazado con la fisiología de las células intestinales, y no un fenómeno puramente mecánico debido á desequilibrios de presión; pues cuando la célula cae enferma, las vellosidades intestinales absorben mal, ó se da en lugar de un fenómeno de endosmosis, un acto de exudación.

Los *secretores* moran igualmente en las fronteras orgánicas, y su actividad consiste en determinar corrientes de materia desde el organismo al exterior.

Los epitelios *protectores* forman corazas impermeables aisladoras del organismo, por ejemplo, la capa córnea de la piel, el epitelio bucal, el vesical, el uretral, etc. Aquí la función no resulta de las propiedades fisiológicas, sino de las cualidades físicas de las células, y obran más eficazmente los elementos muertos (células córneas) que los vivos.

Los epitelios de *relación* ó neuro-epitelios, tienen por fin recoger las fuerzas vivas exteriores y comunicarlas bajo formas nuevas á los centros nerviosos.

La *nutrición* de los epitelios se determina por imbibición de los plasmas del tejido conjuntivo subyacente, pues carecen de vasos y aun de nervios, exceptuando algunas formas epiteliales estratificadas que los poseen sensitivos.

La vida de los epitelios es efímera, especialmente en las variedades estratificadas. En la piel y mucosas las células se renuevan constantemente, reemplazando las que se engendran por segmentación en las capas profundas, á las que se desprenden en las superficiales. En los epitelios glandular é intestinal, esta proliferación tiene por fin sustituir las células disueltas en la formación de los líquidos segregados (células lácteas, pépsicas, salivales, caliciformes del intestino). Con todo, existen ciertos epitelios como los serosos, glandulares, del hígado, riñón, etc., cuyos elementos gozan de cierta permanencia y fijeza, pues rara vez exhiben fenómenos de división.

Las células epiteliales presentan ambos modos proliferativos: el directo y el kariokinético. Este último proceder es muy común en los epitelios estratificados de las larvas de batracios. La figura 52 E, presenta algunas fases kariokinéticas que, junto con otras de partición directa, se observan á menudo en el epitelio corneal anterior de la rana.

Cada especie epitelial posee, además de estas actividades generales, una virtud propia, es decir, su irritación funcional predominante. Las células vibrátiles, á beneficio del movimiento ondulante de sus pestañas, difunden los líquidos que lubrifican la mucosa respiratoria; las caliciformes elaboran el moco que humedece la superficie intestinal; las endoteliales filtran las partes líquidas de la sangre y plasmas interorgánicos; las pigmentarias absorben los rayos luminosos que atraviesan la retina, evitando las reflexiones de luz en la cámara ocular, etc.

Según resulta de las investigaciones de Boll, Ewald y Kühne, el pigmento retiniano posee movimientos subordinados á la influencia luminosa. Bajo la acción de la luz, los cristales de melanina avanzan por entre los conos y bastoncitos retinianos hasta la membrana limitante externa, en tanto que en la obscuridad desandan el camino, retirándose en el cuerpo celular. Para Kühne (*Zur Photochemie der Netzhaut. Sitzung des naturhistor-medicin, Bereins zu Heildelberg,* 5 de Enero de 1877), el pigmento susodicho tiene además la propiedad de engendrar la *fotoestesina,* ó materia colorante sensible de la retina.

Desarrollo del tejido epitelial. Dimanan los epitelios de las tres hojas blastodérmicas. Del *ectodermo* proceden el epidermis de la piel

y de las aberturas naturales, el epitelio bucal, el conjuntival, el del oído externo y el de todas las glándulas cutáneas. Del *entodermo* se engendran el epitelio intestinal y pulmonar y el de las glándulas anejas. Y del *mesodermo* derivan los endotelios vascular, seroso y el epitelio de las glándulas genitales, por intermedio de los cuerpos de Wolf, engendrados en los primeros días de la época embrionaria á expensas de la cavidad visceral ó pleuro-peritoneal.

Los epitelios sufren pocas transformaciones en el curso de su evolución. Unicamente crecen en tamaño y se multiplican en las regiones expuestas á roces y presiones constantes, disponiéndose en varios estratos, de los que los más superficiales se hacen notar desde luego por el mayor aplanamiento de sus células. No se conocen bien las fases intermedias que recorren los epitelios más diferenciados (con chapa, pestañas, anastomosados), hasta alcanzar su estructura adulta.

Los endotelios se constituyen por el aplanamiento de las células esféricas ó fusiformes del tejido conjuntivo y por el contacto de sus bordes. Las gradaciones de esta transformación se hacen evidentes en las células de las aortas primitivas, del corazón y de la cavidad pleuro-peritoneal del embrión. Este proceso se repite también en la formación de las serosas profesionales del hombre adulto, y en el que tiene lugar al rededor de los nervios y músculos de la rana, que, como es sabido, están en gran parte revestidos por membranas de endotelio. Bajo este aspecto, las cavidades serosas pueden compararse á lagunas conjuntivas hipertrofiadas, en las que los elementos mesodérmicos se han multiplicado y aplanado hasta el punto de revestir toda la superficie interior de los fascículos limitantes.

Preparación de los epitelios. Tres procederes técnicos pueden utilizarse con tal objeto: la disociación, los cortes seguidos de coloración y la impregnación argéntica.

A.—*Disociación.* Difícil de aplicar en los epitelios pavimentosos estratificados, proporciona excelentes resultados en los alargados, como el prismático del intestino, vibrátil de los bronquios, etc.

El medio aislador preferente es el alcohol al tercio. En este líquido se abandonarán á la maceración por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, trozos de mucosa fresca provistos de su revestimiento epitelial. Al cabo de

este tiempo, la capa epitelial aparecerá hinchada y de un aspecto gelatinoso transparente. De esta masa blanda y viscosa, que contiene las células disociadas y separadas por un líquido como mucoso, se tomará una pequeña parte y se agitará en el centro de un porta-objetos con una gota de hematoxilina ó picrocarminato.

La hematoxilina será filtrada antes de ser usada y se tendrá cuidado de no colorar con ella el objeto sino breves minutos. El picrocarminato podrá actuar mucho más tiempo. En todo caso, se cubrirá la preparación con una laminilla y después se depondrá en el borde del cubre-objetos una gota de glicerina. Por el lado opuesto á la glicerina, y en contacto con la materia colorante, es conveniente poner un poco de papel secante. De esta suerte, á medida que la materia tintórea desaparece, penetra la glicerina. Para evitar que, á consecuencia de esta maniobra, sean arrastradas casi todas las células aisladas del preparado, se tendrá la precaución de no depositar en el borde del cubre-objetos más que la cantidad de vehículo conservador estrictamente preciso. Resta no más, para terminar la preparación, limpiar el exceso de glicerina que rezuma en torno del cubre-objetos y ejecutar la cementación definitiva.

En vez del alcohol al tercio, podrá usarse también como aislador el suero yodado (véase técnica, p. 35). En este líquido se abandonarán los objetos por dos ó tres días, al cabo de los cuales será fácil, raspando con un escalpelo la superficie epitelial, arrancar algunas células perfectamente aisladas para el estudio.

B.—*Método de los cortes.* Se aplica especialmente al estudio de los epitelios pavimentosos estratificados, siendo igualmente provechoso para los alargados.

Comiénzase por indurar los tejidos frescos en alcohol de 40° por dos ó tres días; después se someten á las operaciones de encastramiento en celoidina ó parafina. Los cortes finos podrán teñirse en hematoxilina, picrocarmín, carmín de Grenacher, hematoxilina de Heidenhain, &.

C.—*Impregnación argéntica.* Es el medio casi exclusivamente usado para la preparación de los endotelios y de los epitelios delgados de muchas capas. Para los detalles del manual operatorio, remitimos al lector al capítulo IV de la técnica. Aquí recordaremos solamente: 1.° Que las piezas destinadas á impregnarse deben ser transparentes, por ejemplo: la córnea de la rana ó del conejo, y el mesenterio, el epiplon mayor, el centro frénico, las aurículas, las delgadas venas, la vejiga, etc., de los pequeños mamíferos. 2.° Que no deben usarse soluciones más fuertes que al $^1/_{500}$, so pena de ver con el tiempo ennegrecerse casi totalmente la pieza. 3.° Que no hay que abusar del lavado preliminar (antes de la impregnación) con agua destilada,

pues las células se desprenden y los cementos pierden sus cloruros, por lo cual será conveniente, cuando la superficie epitelial no ha sido manchada por la sangre, prescindir de todo lavado previo. 4.º Que, finalmente, el nitrato no debe obrar sino breves instantes. Es conveniente lavar bien la preparación una vez impregnada, pero no aconsejamos fijarla, después de expuesta al sol, en el hiposulfito de sosa; las líneas del cemento toman un matiz castaño claro, que con el tiempo puede palidecer aún, y, en todo caso, se pierde siempre el bello aspecto de las preparaciones recién impregnadas.

Dogiel recomienda para teñir el cemento interendotelial de vasos y serosas, el método de Ehrlich al azul de metilo. Al efecto somete las membranas frescas durante algunos minutos á la acción de una solución concentrada de azul; luego sin lavar el preparado, lo trata por una solución saturada de picrato amónico. Al microscopio aparece el cemento impregnado de azul intenso.

Existen epitelios susceptibles de examinarse en fresco en plena vitalidad. Tales son las células epiteliales de la boca y de las fosas nasales del hombre, y los epitelios de la córnea, de la lengua, exófago, vejiga urinaria, etc., de la rana y pequeños mamíferos. Para estudiar el epitelio bucal del hombre, basta rascar la superficie de la lengua con un escalpelo; en la saliva espesa de esta suerte arrastrada, hállanse multitud de células pavimentosas, cuyo núcleo es visible sin ayuda de reactivo alguno. En el moco procedente de la faringe se encuentran células todavía mejores, en cuanto á sus caracteres típicos. En ellas se denuncia fácilmente con los reactivos del núcleo la red cromática y la cubierta acromática.

La preparación de las células del exófago y lengua de la rana, se verifica del propio modo. Unicamente cuando se deseen sorprender los movimientos vibrátiles, convendrá cortar un pellizco de la mucosa lingual y observarlo doblado entre dos laminillas. En el borde doblado se advertirá un movimiento rápido de oscilación revelable especialmente por las corrientes del líquido y la agitación de los hematíes y células desprendidas en las inmediaciones del epitelio.

El epitelio corneal de la rana se observará en el agua, encerrado entre el porta y el cubre-objetos. La delgadez de la córnea consiente examinarla por entero; solamente es preciso, para evitar arrugas nacidas de su forma convexa, tajarla en pedazos. Esta preparación del epitelio gana en corrección y belleza, añadiéndole una gota de solución ácida de violeta, de dalia ó de verde metileno: los núcleos se tiñen en el acto, demostrando una hermosa red cromática y, muchos de ellos, fases kariokinéticas. Este proceder de teñido es aplicable á todas las células epiteliales frescas y hace resaltar por modo admirable todos los detalles del núcleo. Desgraciadamente no pueden conser-

varse en la glicerina estas preparaciones, pues al poco tiempo la materia colorante se disuelve en el vehículo.

Para hacer preparaciones durables de estos epitelios, será preciso utilizar como colorantes los carmines aluminosos ó la zafranina, y como montaje definitivo, el bálsamo del Canadá.

CAPÍTULO III.

TEJIDO DEL ESMALTE.

a.—**Def.** El esmalte es un tejido de consistencia pétrea, de origen ectodérmico, formado de elementos prismáticos larguísimos, soldados entre sí á la manera de los epiteliales, por escasa materia intersticial.

b.—**Distribución y caracteres físicos.** Hállase no más esta variedad histológica en la corona de los dientes, formando una costra blanco azulada, vítrea, de aspecto nacarado y brillante. Su dureza es tal que raya el acero, y su fractura es fibrosa. El revestimiento que el esmalte constituye al diente disminuye de espesor desde lo alto de la corona hasta el cuello en que termina. El examen á favor de la luz polarizada prueba que este tejido es birefringente como el muscular y el óseo.

d.—**Estructura.** Cuando se examina al microscopio un delgado corte del esmalte, adviértense ciertas fibras paralelas un poco ondeantes, de 4 milésimas de espesor, que comienzan en la superficie del diente por su extremo superior y terminan en el marfil por su inferior. Hay fibras más cortas que parecen terminar en punta en el espesor mismo del esmalte sin alcanzar el marfil.

La dirección de las fibras es normal al plano del marfil; así que es vertical en lo alto de la corona y transversal en los lados de ésta.

Los cortes transversales ó paralelos á la superficie libre del esmalte muestran campos exagonales de la misma anchura de las fibras, separados por líneas delgadas á modo de cemento de unión. Cada uno de esos campos corresponde á la sección de una fibra adamantina; de suerte que el esmalte está construído de multitud de prismas exagonales apretados y paralelos á semejanza de las células epiteliales alargadas. Frecuentemente se notan en dichos prismas unas

estrías ó bandas transversales que, según algunos histólogos, se deben, por decirlo así, á distintas épocas de sedimentación de la materia calcárea. Aunque la unión de las fibras es íntima en su longitud, vénse en ciertos puntos lagunas ó espacios que semejan hendiduras accidentales del cemento. Algunas son más grandes, están situadas cerca de los extremos profundos de los prismas, y se continúan evidentemente con las lagunas de la capa granulosa del marfil.

Ningún vestigio de cubierta ni de núcleo puede descubrirse en estas preparaciones á considerables aumentos: la cretificación que invadió las células en la vida embrionaria les ha robado con su vitalidad todo detalle estructural.

En la superficie del esmalte de los dientes jóvenes se describe una capa fina, granulosa y hialina, condensación de una hoja epitelial del órgano embrionario del esmalte. Esta corteza, descubierta por Nasmyth, se llama *cutícula* del esmalte. Su espesor no pasa de una milésima y es notable por su homogeneidad y por su extrema resistencia á los ácidos y álcalis. Es, bajo este aspecto, la égida protectora del diente.

e.—**Propiedades químicas.** El análisis químico acredita al esmalte de ser el tejido más inorgánico de la economía; tanto, que las materias orgánicas no entran sino por un 4 por 100. Cuando se macera el esmalte en los ácidos diluídos pierde sus sales y queda reducido á una masa blanda en que todavía son visibles los prismas susodichos. Entre las substancias inorgánicas halladas en este tejido, figura muy principalmente el fosfato y el carbonato de cal. Hé aquí el análisis de Bibra, practicado sobre el esmalte de un molar de adulto: substancia orgánica 3,29; cuerpos grasos 0,20; fosfato de cal y fluoruro de cal 89,83; carbonato de cal 4,37; fosfato de magnesia 1,34; sales diversas 0,88.

f.—**Desarrollo del esmalte.** Este tejido, como lo anuncia ya la forma de sus prismas, es una derivación epitelial, y se engendra á expensas del ectodermo. En un principio, es una bolsita pediculada continuada con la capa profunda del epitelio bucal; más tarde se rompe el pedículo y las células de la pared inferior del saco (órgano del esmalte), se estiran y calcifican hasta convertirse en largos prismas adamantinos. La hoja superior de la bolsa epitelial engendra, transformándose, la cutícula del esmalte. (Véase para más detalles el

tejido dentario.) En sentir de varios autores, de Ebner, por ejemplo, los prismas del esmalte no representan células calcificadas, sino un producto de secreción del epitelio del órgano adamantino. Cuando tratemos de la odontogenia, explanaremos esta opinión, que armoniza con el resultado de nuestras recientes observaciones.

La preparación es análoga á la del tejido dentario y con éste se expondrá.

CAPÍTULO VI.

TEJIDO DEL CRISTALINO.

A.—**Def.** Es un tejido de naturaleza epitelial, de origen ectodérmico, constituído por células prismáticas exagonales más ó menos transformadas, excesivamente transparentes y asociadas en un órgano de forma lenticular.

B.—**Distribución y caracteres físicos.** Este tejido es exclusivo de la lente del hombre y vertebrados. Es perfectamente transparente durante la vida, pero se enturbia después de la muerte, así como bajo la influencia del calor y de los reactivos. Su consistencia es variable en las diversas especies animales y distinta también en las varias capas de la lente; las superficiales son siempre más blandas que las profundas, las cuales forman lo que se ha llamado *núcleo* del cristalino. Después de la muerte, las fibras periféricas que son las más alterables, se reblandecen, se llenan de vacuolas y dejan trasudar una substancia viscosa y transparente conocida bajo la denominación de *humor de Morgagni*.

El índice de refracción de la lente es, según Krause, de 1'4071 en las capas exteriores, de 1'4319 en las medias, y de 1'4564 en las profundas. Desigual es también el peso específico en las diversas capas cristalinas: alcanza en el núcleo, según Chevenix, 1'194 y en la corteza, 1'076.

C.—**Extructura del cristalino.** Cuando se examinan á la simple vista ó á débiles aumentos las caras anterior y posterior de cristalinos hervidos ó simplemente impregnados con nitrato argéntico, nótase en ellas unas líneas ó bandas de una materia granulosa que la plata enmorenece. Al nivel de estas bandas, prodúcense fácilmente grietas y fisuras, como si el tejido cristalino no tuviese aquí igual resistencia que en otras partes. La dirección y número de estas líneas

son variables en los distintos animales. En la rana y conejo, por ejemplo, se ven únicamente dos líneas rectas ó ligeramente arqueadas, una en la cara anterior y otra en la posterior del cristalino, pero cruzadas en dirección; mas en los grandes vertebrados estas líneas se complican y constituyen estrellas de muchos radios, los que pueden todavía dicotomizarse en su trayecto. En todo caso, las líneas representan meridianos que, partiendo de un centro polar, se extienden hasta cerca del ecuador de la lente. En el hombre adulto se advierten seis ú ocho radios primitivos que se bifurcan en su itinerario.

Las expresadas líneas son hojas de cemento que penetran en el espesor de la lente hasta cerca del núcleo central y reciben los extremos de las fibras cristalinas, á las que dividen en paquetes ó sectores ántero-posteriores. (Véanse para más detalles los tratados de *Anatomía descriptiva.*)

La textura del cristalino comprende tres factores: *las fibras, el epitelio anterior* y *la cápsula.*

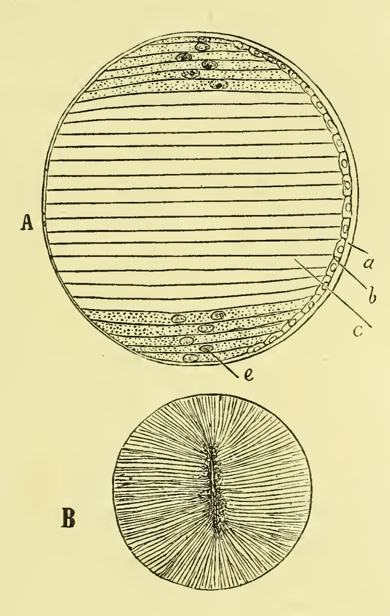


Fig. 59.—B. Cristalino de rana visto de frente. A. 8 diám.

A. Corte ántero-posterior esquemático de un cristalino de rana.

a, cápsula; *b*, epitelio anterior; *c*, fibras ántero-posteriores sin núcleo; *e*, fibras periféricas nucleadas.

a.—*Fibras cristalinas.* Son elementos prismáticos, larguísimos, exagonales, con dos facetas más anchas que las otras, disposición por la cual cabe considerar en cada fibra dos bordes (ángulos agudos), y dos caras (facetas más anchas). La forma de las fibras ofrece dentro de la configuración exagonal numerosas variantes en las diversas especies de animales. Así en los peces ofrecen un gran aplanamiento y delgadez extraordinaria; son menos aplanadas en los batrácios, y todavía menos en los mamíferos y aves.

La longitud de los prismas dista mucho de ser igual en las distintas capas del cristalino. Los superficiales son los más largos y se extienden desde un radio de la estrella anterior á otro de la posterior, adaptándose en su curso á la convexidad de la lente. No obstante, las fibras más periféricas ó ecuatoriales son mucho más cortas; tomando por delante inserción en el epitelio anterior de la cápsula, y acabando posteriormente en la cristaloides posterior (porción posterior de la cápsula cristalina). Las fibras profundas son cortas también, casi rectilíneas, no concurren á las figuras anteriformes y forman las capas centrales ó el núcleo del cristalino.

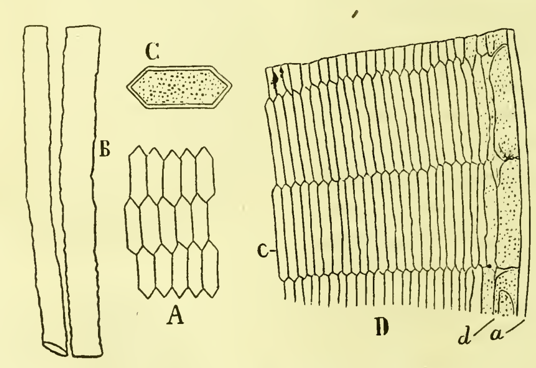


Fig. 60.—D. Corte ecuatorial del cristalino de la salamandra maculosa; se ven en *c*, las fibras cortadas de través, dibujando exágonos muy largos, y en *a*, la cápsula cristalina.

A. Cortes transversales del cristalino del hombre: vése la sección de algunos prismas.

B. Fibras centrales del cristalino del hombre vistas á lo largo.

C. Corte transversal muy ampliado de una fibra cristalina, á fin de que sea visible el protoplasma y la cubierta.

Tanto bajo el punto de vista de su forma como de su extructura, cabe distinguir las fibras cristalinas en dos especies: superficiales y profundas.

Las fibras superficiales, aunque aplastadas, lo son mucho menos que las profundas, de las cuales se diferencian también por ser más granulosas, albergar un núcleo y ofrecer una cubierta. De estas fibras están construídas las capas corticales del cristalino, para lo cual adhiérense entre sí por un cemento blando y poco abundante, y se disponen de suerte que sus planos más anchos son paralelos á la superficie lenticular (fig. 60, D). Las adherencias entre los bor-

des de sus prismas son más tenaces que las que unen las caras, y así se explica que el cristalino se deje disociar fácilmente en láminas concéntricas.

La anchura de las fibras cristalinas superficiales oscila en el hombre entre 10 y 13 μ; su espesor llega á 5 μ, y es más grande en las fibras próximas al ecuador y en las infracapsulares que en las profundas. En el conejo son de 8 á 10 milésimas de anchas, por 2 á 2,7 de espesas, espesor que llega á 4 y más en las más periféricas. En la rana alcanzan 5 á 6 μ de anchura por 1 á 2 μ de espesor. En las aves (gallina), la anchura es de 16 á 18 μ, por 3 á 4 μ de gruesas, etc. En todo caso, las fibras son más gruesas en sus extremidades que en su trayecto.

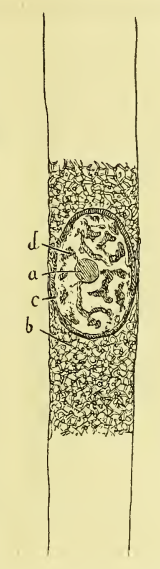


Fig. 61.—Fibra superficial del cristalino de un pájaro, disociada por el ácido sulfúrico diluido. *a*, nucleolo; *d*, filamentos de cromatina; *c*, cubierta cromática del núcleo; *b*, retículo del protoplasma muy aparente y de mallas poligonales, sólo dibujado en un trozo de la fibra.

An. ob. $\frac{1}{18}$ y oc. 2. de Zeiss.

Considérase en estas fibras un contenido, un núcleo y una membrana. El contenido se ha estimado por los histólogos como un líquido homogéneo, ó á lo más ligeramente estriado; pero nosotros entendemos que esta materia es un protoplasma extructurado análogo al de toda célula viviente. En efecto; cuando se examinan las fibras superficiales del cristalino (mamíferos ó aves) disociadas previa acción del alcohol, del ácido crómico, del bicromato de potasa ó ácido sulfúrico diluído, se percibe claramente un armazón apretado de hilos protoplasmáticos. Este armazón es francamente reticulado en el hombre, conejo, rana, salamandra, etc., y sus mallas son por lo común más alargadas en el sentido del eje de los prismas (fig. 61). El *enquilema* ó jugo celular es diáfano y sin granulaciones. Este es el líquido que rezuma por expresión de los extremos de las fibras cortadas, circunstancia por la cual los histólogos han considerado estas fibras como verdaderos tubos.

La cubierta del prisma es muy evidente á grandes aumentos: revélase por un doble contorno ligeramente irregular ó flexuoso. Al

revés de las fibras profundas, las superficiales carecen de espinas de engranaje.

El *núcleo* es un corpúsculo elipsoideo muy alargado en los batrácios, ménos en los peces, aves y mamíferos. El carácter más cul-

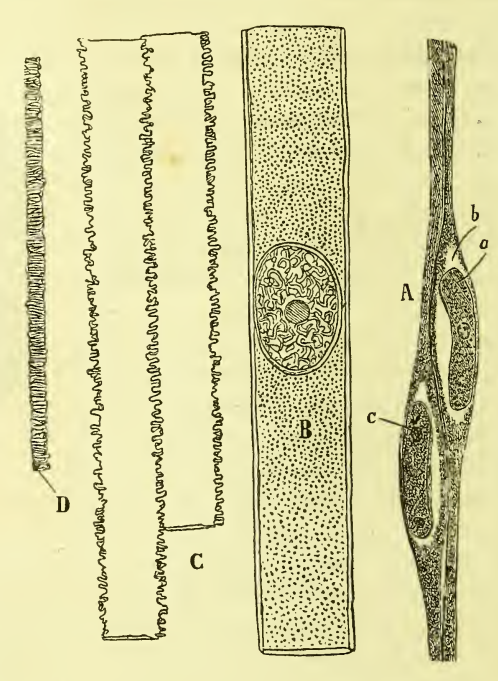


Fig. 62.—Fibras cristalinas de la rana teñidas por el verde metileno.—A. Fibras superficiales vistas de borde.—*a*, núcleo; *b*, vacuola del protoplasma; *c*, nucleolos—B. Fibra superficial vista de cara; el núcleo muestra un nucleolo y un armazón cromático flexuoso.—C. Fibras centrales del cristalino de la rana con serretas en los bordes.—D. Vista de un borde de estos últimos prismas.—Ob. J inm. y oc. 4 Zeiss.

minante de estos núcleos es su gran aplanamiento en el sentido del de la fibra, tanto, que vistos de perfil recuerdan la forma en bastoncito del núcleo de las fibro-células. Su longitud oscila en el hombre entre 8 y 9 μ, en el conejo entre 9 á 13 y entre 18 y 22 en la rana. El núcleo está situado hacia la parte media de la fibra, más cerca de ordinario del extremo anterior que del posterior de ésta.

No corresponden al mismo nivel en cada prisma; mas á pesar de su dispersión, se atemperan en su situación á una faja ó zodíaco que rodea la circunferencia mayor del cristalino, disposición muy visible en los cortes ántero-posteriores de este órgano. Estos mismos cortes muestran que los núcleos yacen en un ensanchamiento de la fibra, y, en muchas especies (rana, salamandra, conejo, etc.), se percibe á este nivel y con especialidad en los extremos del núcleo, una parte más transparente á guisa de vacuola que separa á éste del resto del protoplasma (fig. 62. A).

Examinados estos núcleos en fresco y previa coloración por el verde de metilo, dejan percibir en su interior una red cromática, pálida y apretada. Este armazón nos parece en gran parte contínuo (aves); pero en general su extrema palidez y apretamiento no consienten una percepción muy clara de su verdadera forma. Existe también en todos los núcleos de las fibras cristalinas, cualquiera que sea la especie de vertebrado examinada, un nucleolo esférico brillante, de 1 á 1 $^{1}/_{2}$ μ de espesor (rana), y de propiedades químicas análogas á la cromatina. En la rana, distínguese en él á favor de un buen objetivo (1,30 Zeiss), una zona cromática periférica y otra homogénea acromática y central. En el conejo aparece homogéneo y alcanza un diámetro de 2 á 3 μ. No es raro ver núcleos con dos ó tres nucleolos frecuentemente de tamaño distinto.

Por último, una cubierta acromática apenas perceptible individualiza al núcleo separándole del protoplasma.

Las fibras cristalinas superficiales terminan por delante, unas en la capa epitelial anterior, otras en las líneas ó estrellas de cemento. Por los cabos posteriores concluyen también las más hondas en la estrella posterior, al paso que las periféricas, que son también mucho más cortas, terminan continuándose con la cápsula ó cristaloides posterior. No existe membrana ni cemento intermediario entre la cristaloides y los cabos posteriores de estos prismas; la unión es inmediata, y cuando se la estudia en la rana, hombre, etc., con suficientes objetivos, se advierte que el retículo protoplasmático de los prismas se inserta y confunde con la membrana capsular, notándose á veces (rana, salamandra), transiciones suaves entre dicho retículo y la homogeneidad de la cápsula. Así que puede considerarse la cristaloides posterior como la verdadera membrana posterior

de los prismas, análoga por muchos conceptos á la placa de las células intestinales, y debida quizás como ésta á un trabajo común de secreción del protoplasma.

Las fibras profundas del cristalino se dan á conocer por su dureza, perfecta homogeneidad y carencia de núcleo y cubierta. Son también más delgadas y estrechas que las superficiales. Las fibras profundas son á las periféricas lo que los hematíes á los leucocitos, es decir, unas células muertas sólo útiles al organismo por sus pro-

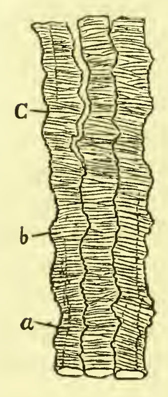


Fig. 63.—Fibras del núcleo del cristalino de la vaca, disociadas en ácido sulfúrico diluido. Se ven escotaduras en los ángulos, y canales paralelos en las caras.

Fig. 64.—Fibras cristalinas centrales del *Pagellus axillaris* vistas de plano.

A. Una fibra examinada á gran aumento. Ob. $\frac{1}{18}$ oc. 4.

B. Fibras menos amplificadas donde se muestran los engranajes.

piedades físico-químicas. Su único carácter morfológico importante estriba en los singulares dentellones de sus bordes, dentellones que engranando con los de las vecinas fibras, establecen un perfecto y sólido ajuste entre todos los elementos del núcleo cristalino. Estos dentellones preséntanse de ordinario solamente en los bordes de las fibras, es decir, al nivel de los ángulos agudos del prisma exagonal aplanado que éstas representan (peces, batrácios). Pero hay especies cuyos prismas cristalinos exhiben dos estriaciones: una grande en el borde, bajo la forma de grandes escotaduras semicirculares; otra pequeña,

en las caras, de pequeños canales ó ranuras paralelas (ratón, vaca, etcétera) (fig. 63). En ocasiones, los dentellones se hallan exclusivamente en todas las aristas del prisma (aves). Los mismos dentellones de los bordes están á veces provistos de otros dientes más pequeños, disposición clarísima en los peces (fig. 64), menos evidente en los batrácios y mamíferos. Iguales variantes se observan en cuanto á la dimensión de cada diente; apenas perceptibles en el hombre, alcanzan en el buey, y sobre todo, en los peces, un desarrollo extraordinario (de 5 á 6 μ). Ningún detalle muestran, por lo demás, aun á fortísimos aumentos, los prismas centrales cristalinos; nada indica la presencia de cubierta, y todos ellos parecen formados de una masa dura, homogénea, diáfana, sólo comparable al hematíe de los mamíferos.

b.—*Capa epitelial del cristalino.* Detrás de la cristaloides anterior y delante de los cabos anteriores de los prismas superficiales hay una capa de células epiteliales, fácilmente visibles después de la impregnación argéntica. Estas células son poco aparentes en la rana y conejo cuando se observan en los cortes ántero-posteriores de la lente; pero son fácilmente visibles después de tratar la cristaloides anterior en fresco con el verde metileno ácido. Por este proceder se revelan en la rana unas células grandes, pálidas, separadas por líneas rectas de un cemento transparente; cada célula de éstas aloja excéntricamente un núcleo elipsoideo de 12 á 16 μ de largo, provisto de un retículo cromático pálido y apretado, y de uno ó varios nucleolos vesiculosos tingibles en su periferia por el verde metileno con igual intensidad que el resto de la cromatina. Diríase, aunque esto no nos parece probado, que los hilos del armazón se continúan con la capa cortical del nucleolo.

En el hombre constituyen estos elementos un epitelio casi cúbico, con 5 ó 6 facetas laterales. No son iguales estas células en anchura: vistas de frente forman un mosáico, donde células pequeñas alternan con grandes, ofreciendo un aspecto solo comparable con el que presenta el centro frénico nitratado del conejo. Las células pequeñas alcanzan un diámetro de 7 á 8 μ; las grandes de 17 á 20 μ. Las hay también de tamaños intermedios. Su espesor ó diámetro ántero-posterior, igual en todas, es de 9 á 10 μ. Los bordes de las células son casi rectilíneos, fácilmente separables por disociación

mecánica; forman polígonos de cinco ó más lados. Distínguense fácilmente en ellas: un protoplasma reticulado de aspecto como esponjoso, y un núcleo redondeado que alcanza igual tamaño en los elementos chicos que en los grandes (de 6 á 8 μ). Albérgase dentro del núcleo un armazón cromático, probablemente reticulado, sin nucleolos verdaderos, comprendido todo bajo una cubierta nuclear acromática.

Despréndense fácilmente estas células de las fibras cristalinas superficiales á las que adhieren á favor de un cemento muy blando; pero es raro verlas despegadas de la cristaloides anterior, con la cual evidentemente se continúan. A grandes aumentos se ven las hebras del retículo soldadas con la cristaloides sin interposición de cubierta, de suerte que la cápsula es aquí la verdadera membrana celular.

La capa epitelial del cristalino termina en su circunferencia, cerca de la zona ecuatorial de la lente. En este sitio se advierte que las células se alargan y que adquieren paulatinamente el aspecto y dimensiones de los prismas. Esta continuidad entre los prismas y las células epiteliales se establece por rápida transición en los batrácios y peces, por formas intermedias más ó menos graduadas en los mamíferos.

c.—*Cápsula.* Esta es una cubierta extremadamente diáfana y homogénea que envuelve la totalidad del cristalino. La porción de esta membrana que reviste la cara anterior de la lente se llama *cristaloides anterior*, y *cristaloides posterior* la que tapiza su cara más convexa ó posterior. Estas dos porciones de la cápsula no tienen igual espesor. En el hombre, el grosor de la cristaloides anterior oscila, según nuestras mensuraciones, desde 21 á 27 μ, mientras que la posterior llega solamente á 8 ó 10 μ. Dicho espesor es en el conejo de 13 á 14 μ para la cristaloides anterior, y de 3 á 4 μ para la posterior. En la rana estas dimensiones son mucho más reducidas: la cápsula anterior alcanza á 2 $^1/_2$ á 3 μ y la posterior apenas pasa de 1 μ. En este batrácio adviértese también en esta última porción de la cápsula un cierto aspecto granuloso de la materia que la forma y cierta irregularidad de espesor. No está el grosor de la cápsula en relación con el tamaño del cristalino; por ejemplo: en el ratón, cuyo cristalino es menor que el de la rana, el espesor de la cristaloides anterior puede pasar de 10 á 11 μ.

La cápsula está formada de una materia homogénea, brillante, cristalina; sus fracturas ofrecen bordes correctos, sin ninguna señal de estriación ó de extructura. No obstante, á veces se descompone en trozos paralelos, á guisa de aquellos en que se resuelven por disociación las placas del epitelio intestinal. Alguna vez hemos visto también en ella estrías concéntricas é irregulares, que parecen indicar cierta estratificación. De todos modos, la cubierta cristalina tiene el aspecto de las membranas basales y es comparable á la que separa la capa conjuntiva de los epitelios de la córnea.

Cuando se arrancan los extremos de los prismas insertos en la cristaloides posterior, se descubren en los puntos de implantación unas grandes placas granulosas, poligonales, dispuestas á modo de endotelio y extremadamente delgadas. Estas placas no tienen núcleo, ofrecen un grosor variable y están íntimamente adheridas y hasta continuadas con la cristaloides. Un examen bajo un objetivo poderoso, demuestra en ellas textura reticular, y por la comparación con el tamaño de los extremos de los prismas y por otras señales, se viene en conocimiento de que no son más que restos de las extremidades ensanchadas de los prismas cristalinos que han quedado pegados á la cápsula, á pesar de la disociación; lo cual apoya nuestra opinión sobre la continuidad substancial de los extremos de los prismas superficiales con la cristaloides posterior.

En resumen: las fibras cristalinas superficiales exhiben los caracteres extructurales de la célula tipo. Las centrales son elementos más delgados, duros, homogéneos, estando engranados por sus bordes. La cristaloides anterior es la chapa común del epitelio exterior; la posterior, la placa colectiva de los prismas cristalinos más superficiales. El cristalino es una bolsa epitelial de paredes contínuas, de las que la posterior, por consecuencia de un desarrollo insólito de sus células, ha constituído la casi totalidad de la lente.

D.—**Caracteres químicos.** Las fibras cristalinas encierran en su interior una materia albuminoide transparente, que se coagula por el calor y por los ácidos, conocida con el nombre de *cristalina*. Las fibras superficiales deben contener además la *plastina,* de Reinke, y la *nucleína,* puesto que poseen los atributos morfológicos de las células perfectas.

No se conoce la naturaleza química de la cápsula; se esponja en

los ácidos y álcalis sin disolverse, y, según Strahl y Arnold, es soluble á la larga en el agua hirviente, dando lugar á un producto afine, pero distinto de la gelatina y la condrina.

Hé aquí el análisis del cristalino, ejecutado por Berzelius: *agua,* 58'0; *substancia proteica,* 35'9; *substancias extractivas,* 3'7. *La grasa* entra en su composición por 2'06 por 100, según Husson, y las *materias minerales* por un 0'35 por 100.

E.—**Propiedades fisiológicas.** Las fibras cristalinas superficiales son células vivas que se nutren por imbibición y que ofrecen en algunos casos señales de proliferación. Las profundas son elementos muertos, que desempeñan un papel puramente físico, el dar paso á los rayos luminosos, para cuyo oficio, y á fin de evitar obstáculos, no poseen ni núcleos ni cubierta.

F.—**Desarrollo.** El tejido cristalino procede de la hoja ectodérmica del germen. Después de la formación de las vesículas ópticas (prolongaciones de las vesículas cerebrales anteriores), la piel que corresponde á la región ocular del embrión, se espesa por proliferación de sus elementos epiteliales. Poco después este epitelio se deprime, constituyendo una foseta situada por delante de la vesícula ocular y alojada en una cavidad que ésta le ofrece. La depresión de la piel (foseta cristalina) se ahonda cada vez más; la bolsa así constituída se pedicula; el pedículo se rompe y se forma una vesícula epitelial cerrada por todas partes. Desde ahora la bolsa cristalina puede considerarse formada por dos paredes de evolución y relaciones distintas: la anterior y la posterior.

Las células epiteliales de la anterior permanecen en estado casi indiferente, conservando su aspecto epitelial y aplanándose un tanto.

En cambio, las células de la pared anterior proliferan, se alargan desmesuradamente y llenan toda la cavidad de la vesícula cristalina, hasta aplicarse á la pared anterior. En este proceso de crecimiento y transformación toman la iniciativa los elementos centrales de la hoja posterior, y siguen los periféricos. Por último, de las zonas centrales del cristalino desaparecen los núcleos por atrofia y va borrándose la transición de formas y tamaños que enlazan las células de la hoja anterior con las de la posterior, aunque, como ya en otro lugar digimos, esta continuidad por formas graduadas es todavía visible en el cristalino de los mamíferos.

La cápsula del cristalino es para muchos (Arnold, Sernoff, etc.), formación de la hoja media; pero Kölliker entiende que es simplemente una capa cuticular, resultado de la actividad secretoria de los elementos cristalinos, fundándose principalmente en que jamás se ve en los embriones de ave prolongación alguna mesodérmica delante de la lente, y en cambio, desde las primeras etapas evolutivas es evidenciable ya una cutícula cristalina.

La construcción de las estrellas cristalinas es obra de los últimos tiempos de la vida intrauterina, y su mecanismo de formación no está todavía bien dilucidado. Lo que sí se sabe es que, á partir del quinto mes del desarrollo embrionario, el cristalino posee ya una estrella de tres radios en cada una de sus caras, radios que se orientan de un modo contrario en cada faz cristalina; en la anterior hay uno vertical y ascendente y dos inferiores divergentes, y en la posterior al revés, existe uno vertical descendente y dos ascendentes oblicuos. En los primeros años de la vida estos rayos se subdividen, originándose las complicadas figuras estelares del cristalino del adulto.

G.—**Preparación del cristalino.** 1.ª *Fibras cristalinas.* a.—*Disociación.*—El mejor proceder de estudio de las fibras cristalinas es la disociación mecánica, que podrá efectuarse en cristalinos frescos, desgarrando sus capas superficiales con las agujas en una gota de verde metileno ó picrocarminato. Aplicando el verde de metilo, los núcleos y nucleolos de las fibras aparecerán correctamente teñidos y revelarán una textura fibrilar. Pero estos preparados excelentes para el estudio, no pueden conservarse bien; así que en la mayor parte de los casos deberemos elegir otros métodos. Uno de los mejores consiste en someter el cristalino á la acción de agentes que obran á la vez que fijando, facilitando la disociación, por ejemplo: el ácido sulfúrico, el crómico, el líquido de Müller, etc. Nosotros preferimos el ácido sulfúrico diluído, ya aconsejado por Becker. La cantidad de ácido no debe pasar de 4 ó 5 gotas, por 4 ó 6 gramos de agua destilada. Trozos frescos de cristalino se abandonarán en este licor por espacio de 12 á 48 horas. La maceración en el ácido sulfúrico presta á las fibras mayor opacidad, y actúa disolviendo el cemento de unión, con lo que la disociación de los prismas tiene lugar facilísimamente, á poco que nos ayudemos de las agujas. Terminada la disociación, se lava la preparación al agua destilada para arrastrar el exceso de ácido, se tiñe por la hematoxilina ó el carmín y se monta en glicerina. Este proceder conserva muy bien la forma y extructura de las fibras superficiales.

b.—*Cortes.* A fin de completar el estudio de los prismas, es muy útil la práctica de secciones de la lente en dos sentidos perpendiculares, el meridiano y el ecuatorial. En los cortes ecuatoriales se percibirán claramente los exágonos ó secciones transversales de las fibras, apreciándose la verdadera forma y espesor de éstas, y en los ántero-posteriores ó meridianos veremos las fibras á lo largo con sus núcleos, y las relaciones de los cabos de éstas con la cápsula cristalina. Los cortes deben hacerse lo más finos posible (de 6 á 10 μ), para lo cual convendrá dar al cristalino, ya indurado en el líquido de Müller ó alcohol, un suplemento de consistencia por medio de la goma pícrica y el alcohol absoluto. No es de recomendar al efecto la inclusión en parafina; casi siempre la dureza obtenida es demasiada y corren riesgo de mellarse los microtomos. El endurecimiento en el ácido ósmico y subsiguientemente en el alcohol, fija muy bien las fibras, pero les presta tanta homogeneidad, que apenas son visibles sus contornos.

2.—*Epitelio.* Puede evidenciarse por la impregnación argéntica. Para ello no hay más que sumergir un cristalino pequeño (de rana ó ratón), por pocos minutos en un soluto de nitrato de plata, al 1 por 300. Lavado y expuesto á la luz en una gota de glicerina, mostrará en su cara anterior tres cosas: 1.º, unas líneas negras que limitan espacios poligonales bastante extensos, correspondientes al cemento inter-epitelial; 2.º, líneas morenas granulosas, paralelas y convergentes á las estrellas de cemento, que son los intervalos de unión entre los prismas cristalinos superficiales (esta impregnación se vé mejor en la cara posterior del cristalino); 3.º, las mismas estrellas de cemento representadas por *tractus* gruesos, morenos y granulosos.

Un estudio más completo del epitelio anterior exige preparaciones de la cápsula en que las células, convenientemente teñidas, sean vistas de frente. Con este fin, comenzaremos por indurar un cristalino humano en bicromato de potasa ó ácido crómico. A los pocos días de maceración, la cristaloides an. terior se despegará fácilmente del tejido cristalino, arrastrando consigo el epitelio. Un pedazo de la cápsula extendido en porta-objetos, teñido con hematoxilina, aclarado por el ácido acético diluído, y conservado en glicerina, mostrará suficientemente claras las células con sus núcleos, así como las relaciones de éstos con la cápsula. Sin embargo, este último punto, igualmente que las conexiones del epitelio con los prismas, podrán estudiarse mucho mejor en delgados cortes meridianos de la lente. Un análisis bastante detallado de estas células y núcleos puede practicarse también en fresco, tratando por el verde de metilo ácido un cristalino entero de rana. A través de la cápsula, y á medianos aumentos, se diseñarán admirablemente las células y los núcleos, coloreados de verde claro; se advertirá que son excéntricos en posición y que las células son polígonos irregulares.

CAPÍTULO V.

TEJIDO CÓRNEO.

A.—**Def.** Llámase tejido córneo aquel cuyas células, originariamente protoplasmáticas, han sufrido en el curso de su evolución una transformación córnea (keratinización), acompañada del aminoramiento y aun total perdida de las propiedades vitales.

Este tejido abraza dos variedades principales: el piloso y el ungueal.

VARIEDAD PILOSA.

B.—**Caracteres físicos y disposición general.** Este tejido se dispone en filamentos cilíndricos ó aplanados, flotantes en la atmósfera por su extremidad periférica é implantados en el dermis por su extremidad central.

El color de este tejido es variable según las razas, oscilando desde el negro puro hasta el pajizo y el blanco. Su consistencia es dura en el tallo, blanda y pulposa en la raíz. Goza este tejido de gran flexibilidad, extensibilidad y elasticidad. Su poder higroscópico es bien conocido.

La variedad pilosa está abundantemente esparcida por la piel del hombre y vertebrados superiores. En el hombre solo las plantas y palmas de las extremidades, el párpado superior y piel del prepucio carecen de este tejido, que forma, cuando se detiene en su evolución, el vello ó pelo atrófico sembrado por casi toda la superficie de la piel.

C.—**Extructura y textura.** Dos partes tiene que estudiar el tejido piloso: el tejido del folículo y el del pelo propiamente dicho.

a.—**Folículo piloso.** Es un saco continuado por la piel, de la cual se forma por una especie de invaginación, destinado á prote-

jer la raíz del pelo, con cuyo extremo inferior ó bulbo se continúa. Procediendo de fuera á dentro, ofrece el folículo piloso las siguientes capas: 1.ª, *cubierta conjuntiva;* 2.ª, *membrana vitrea ó basal;* 3.ª, *la vaina externa de la raiz;* 4.ª, *la vaina interna de la misma.*

1.—*Capa conjuntiva.* Esta cubierta no es otra cosa que el corión ó dermis de la piel que, prolongándose alrededor del folículo, le forma una envoltura fibrosa bastante bien deslindada del tejido conjuntivo subcutáneo. De ella, así como de la papila, eminencia cónica de tejido conjuntivo que penetra en el cabo inferior de la raíz del pelo, glándulas sebáceas, senos sanguíneos, músculos erectores, etc., nos ocuparemos más adelante cuando estudiemos el sistema tegumentario y piloso.

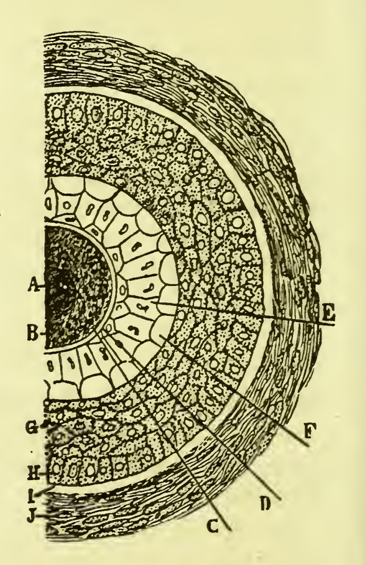


Fig. 65.—Corte transversal del folículo de una pestaña, practicado un poco por encima del bulbo.—Carmín.—Acido acético.

A, médula del pelo; B, capa cortical del mismo; C, cutícula del pelo; D y E, filas celulares de la capa de Huxley; F, capa de Henle; G y H, vaina externa de la raíz; I, capa basal de la hoja conjuntiva; J, del folieulo. (Ob. E. Oc. 2. Zeiss.)

2.—*Membrana vitrea ó basal* (I). Es también continuación de aquella zona pálida y amorfa que separa el dermis del epidermis; solo que aquí alcanza mayor grosor y está más netamente limitada. Su espesor es de 2 á 3 μ. En los extremos superior é inferior del folículo aparece con menos claridad, borrándose en la papila y sus alrededores. Es de notar que no termina hacia abajo por adelgazamiento, sino por mayor palidez y vaguedad de contornos, pareciendo que ocupa sus veces una zona conjuntiva estriada, menos condensada y homogénea.

La membrana vítrea se tiñe, á la manera del tejido conectivo, por el carmín de un rosa pálido (véase fig. 65, I). Es excesivamente resistente á los ácidos y álcalis, los que, cuando más, la hinchan sin disolverla ni revelar en ella el menor rastro de extruc-

tura. Confúndese dicha capa hacia fuera con el tejido fasciculado del folículo, y toca por dentro, mediante una cara ligeramente dentada, con la capa malpigiana del pelo ó vaina externa de la raíz. Frecuentemente se advierte, entre ésta y la capa vítrea, una ténue membrana muy refringente, que limita las extremidades periféricas de los protoplasmas epiteliales. Esta zona intermedia me parece análoga (aunque mucho menos desenvuelta) á la capa brillante que poseen los piés de las células epiteliales profundas de la córnea en su contacto con la basal.

Es cuestionable el origen de la membrana vítrea. Su adherencia á las células malpigianas cilíndricas inmediatas de las que semeja placa común de revestimiento; el hecho de no ser perceptible donde no existe la vaina externa de la raíz (en el fondo del folículo y papila), y la semejanza química y morfológica con la cápsula cristalina de origen puramente epitelial, hacen verosímil la opinión de que la capa vítrea sea un producto secretorio de las células malpigianas inmediatas.

3.—*Vaina externa de la raíz.* Recibe este nombre una túnica de epitelio pavimentoso estratificado, situada por dentro de la membrana vítrea (fig. 65, G y H).

Esta vaina se continúa en la extremidad superficial del folículo con el cuerpo de Malpigio de la piel; por abajo adelgaza y cesa de repente al nivel de la papila.

Su espesor es muy variable en las distintas especies de cabellos. De ordinario guarda proporción con el diámetro del pelo, es más ancha en la parte media que en las extremidades del folículo. El espesor es de 5 á 7 centésimas.

Consta esta túnica de varios estratos celulares. El *periférico,* confinante con la capa basal, aloja elementos prismáticos, cuya dirección es normal á la superficie del pelo. Los estratos medios exhiben formas poliédricas, y el más interno presenta elementos aplanados que recuerdan los interpuestos entre el cuerpo de Malpigio y el epidermis córneo. Es de advertir, no obstante, la circunstancia de que rara vez se cargan estas células de granulaciones de eleidina, carácter que las distingue de las homólogas de la piel.

Todos estos elementos se enlazan entre sí por filamentos de unión, más cortos y delgados que los de la piel, y poco ó nada visibles en las partes inferiores de la vaina.

La vaina externa de la raíz se adelgaza paulatinamente por abajo. Las cuatro ó cinco capas de células se reducen á dos y luego á una. Esta capa, formada de elementos atrofiados donde no puede percibirse bien ni el núcleo ni el protoplasma, cesa bruscamente, sin continuarse, al menos en los pelos adultos, con las células epiteliales del bulbo pitoso.

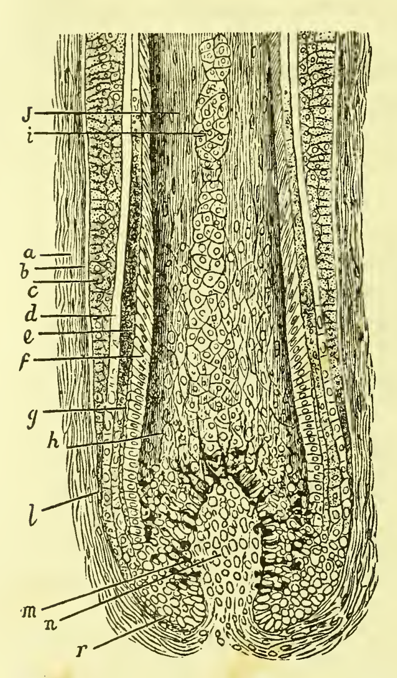


Fig. 66.—Corte longitudinal del folículo y raíz de una pestaña.

a, cubierta conjuntiva del folículo; *b,* membrana vítrea; *c,* vaina externa de la raíz; *d,* capa de Henle; *e,* capa de Huxley; *g,* capa de la cutícula de la vaina; *f,* epidermis del pelo; *h,* capa cortical de la raíz del pelo; *i,* médula de la raíz; *l,* terminación de la vaina externa de la raíz por una fila de células atrofiadas; *m,* células pigmentarias fusiformes y estelares que rodean la papila; *n,* papila; *r,* parte la más profunda del bulbo, cuyas células no permiten ver sus contornos.

4.—*Vaina interna de la raíz.* Cubierta diáfana, homogénea, concéntrica á la precedente. Tíñese por el ácido pícrico y rechaza el carmín, la hematoxilina, las anilinas y casi todas las substancias tintóreas. Resalta correctamente gracias á su extrema diafanidad, tanto del tejido del pelo como de la vaina malpigiana; caracteres todos que la aproximan á la capa córnea de la piel, con la que evidentemente se continúa por el extremo superior del folículo.

No cubre esta vaina toda la raíz del pelo, sino solamente su parte media é inferior. Hacia arriba se desagregan y descaman sus elementos, quedando, por consecuencia, en lo alto del folículo y en torno de la raíz, un espacio tubular, donde se vierte la secreción sebácea, y á donde, de ordinario, llega el aire y sus naturales impurezas.

Hacia abajo, la vaina se confunde con las células más periféricas

del bulbo piloso. El crecimiento y evolución de estos elementos tiene lugar de abajo á arriba, en el mismo sentido que el pelo, deslizándose sobre la vaina externa, con cuyas células no tienen ninguna relación evolutiva.

La vaina interna de la raíz se compone de tres capas que han recibido nombre distinto. Son de fuera á dentro: *capa de Henle, de Huxley* y *cutícula de la vaina*. Estas capas, confundidas en lo alto del folículo bajo un aspecto casi homogéneo, están bien deslindadas en la porción media de aquél y, sobre todo, en el bulbo piloso, con cuyas células periféricas se continúan.

1.—*Capa de Henle* (fig. 65, F). Túnica diáfana y homogénea, de 6 á 8 μ de espesor, situada en la parte más externa de la vaina interna de la raíz.

Comienza por abajo, en el mismo cuello de la papila, continuándose con la fila más excéntrica de células del bulbo. En su origen, los elementos que la forman son colorables por el carmín, mas no presentan esferas de eleidina (1) como los de la capa de Huxley; su núcleo, muy aparente, es vesiculoso y posee red cromática irregular. A medida que estas células ocupan planos más altos, crecen en longitud, pierden la aptitud de teñirse por el carmín, se hacen diáfanas, apareciendo casi del todo keratinizadas un poco por encima del extremo superior de la papila. Cuando se examinan las células en los puntos donde la keratinización se ha iniciado ya, se advierte en ellas, sobre todo observando con fuertes objetivos, un núcleo pálido y un protoplasma surcado por delgados hilos longitudinales que se continúan al parecer con los de las células superpuestas de la misma capa (fig. 67, A).

Al nivel de la porción media del folículo y aun antes, las células de la capa de Henle muestran sus caracteres propios. Son alargadas, en sentido paralelo al eje del pelo, aplanadas de dentro á fuera, absolutamente diáfanas, sin núcleo ni protoplasma.

Cuando se las examina de frente, forman un mosáico poligonal alargado, y se echan de ver en los intersticios celulares y de trecho

(1) No me parece probado, á pesar de la afirmación de Ranvier, que estas células pasen siempre por la fase de eleidinización. No poseen esferas de eleidina, y, en muchos casos, no se tiñen mejor por el carmín que las células bulbares inmediatas.

en trecho, unas criptas ó rendijas donde, como Ranvier ha demostrado, se insinúan prolongaciones de las células de la capa de Huxley. Esta disposición se comprueba fácilmente en los cortes transversales del folículo que pasan un poco por encima del bulbo.

2.—*Capa de Huxley*. Es concéntrica á la anterior y es mucho más gruesa. Encierra una ó dos y rara vez tres filas de células. El espesor total de esta capa es en el cuero cabelludo (con dos filas de células) de 20 á 22 μ; en las pestañas (con una fila casi siempre) no pasa de 16 μ (fig. 65, E).

La capa de Huxley comienza á diseñarse en las células indiferentes del bulbo, algo más arriba y por dentro de la de Henle. Sus células, *ab initio* embrionarias y protoplasmáticas, se cargan pronto de unas esferas homogéneas, refringentes, pálidas, de dimensión varia, y notables por su extrema afinidad por el carmín, hematoxilina, verde metileno, etc., y en general, por todos los reactivos del núcleo. La abundancia de estas inclusiones (*eleidina* de Ranvier) es tal, que impiden la percepción del núcleo y de todo detalle estructural. No obstante, en cortes bien delgados el núcleo es visible, distinguiéndose por su menor coloración de las esferas de eleidina; y son de notar también un retículo protoplasmático y un enquilema granuloso, casi tan fuertemente colorado como las citadas esferas. Así, es probable que dicha materia, ávida del carmín, se encierre en las células bajo dos formas: en difusión en el enquilema y en concreción en los gránulos llamados de *eleidina*.

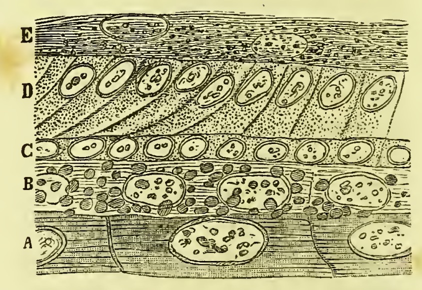


Fig. 67.—Corte longitudinal de parte de la vaina interna de la raíz examinada á gran aumento.
A. células de la capa de Henle; B, células de Huxley con granulaciones de eleidina; C, células del epidermis de la vaina; D, células del epidermis del pelo; E, parte de las células corticales del pelo.

La zona de eleidinización es muy extensa; en las pestañas del hombre, por ejemplo, alcanza una longitud de 25 á 30 centésimas. Por encima de esta región, la eleidina se pierde, las células se keratinizan, tornándose homogéneas y pálidas, y el núcleo se deforma y

atrofia, adquiriendo la figura de un bastoncito con mamelones é irregularidades en el contorno. No obstante, estos núcleos raquíticos subsisten en toda la extensión de la capa de Huxley, á diferencia de la de Henle, que los pierde prematuramente.

Por lo demás, las células de Huxley forman también un mosaico transparente en torno del pelo. Pero son más aplanadas en sentido vertical y más largas en el transversal ó perpendicular á la superficie del pelo que las de Henle. Cuando se examinan en los cortes transversales se muestran convergentes al pelo, con una extremidad externa más gruesa, un poco cóncava, para adaptarse á la convexidad ligera de las células de Henle, y con una extremidad interna, ingerida entre los elementos más cortos de la segunda capa de Huxley (cuando existe), y si falta ésta, en contacto con la cutícula de la vaina (véase la fig. 65, E).

3.—*Cutícula de la vaina.* Cuando se examina la raíz de un pelo seccionada á lo largo, se advierte una banda estrecha y brillante entre el epidermis del pelo y las células de Huxley. Esta capa, keratinizada en casi toda su extensión y difícil de resolver en sus células componentes, es la cutícula de la vaina. En el bulbo piloso es donde esta túnica se muestra con claridad. En tal paraje está representada por una fila de elementos cúbicos, enanos, de 5 μ de largos por 3 de gruesos. Su núcleo es pequeño, elipsoideo y fuertemente colorable por los reactivos de la cromatina. Estas células confúndense hacia abajo con los elementos indiferentes del bulbo; por arriba, y á nivel más inferior que las de Huxley, se keratinizan, transformándose en escamas imbricadas. La cutícula alcanza aquí un espesor de 2 á 2 1[2 μ.

b.—**Tejido del pelo.** Trataremos primero del bulbo piloso y luego del tallo, pues la estructura varía notablemente en estas dos partes.

1.—*Bulbo.* Es el ensanchamiento ovoideo en que termina la raíz por su extremo profundo. En los pelos gruesos y adultos, esta dilatación ofrece en su parte inferior una fosa cónica, semejante al fondo de una botella, donde se insinúa la papila, excrecencia conjuntivovascular de la túnica fibrosa del folículo. En los pelos atróficos y en la mayor parte de los delgados, el bulbo carece de depresión terminal, y por consiguiente, no hay papila.

Las células del bulbo son pequeñas, poliédricas, con escasa cantidad de protoplasma y un núcleo esférico ó algo alargado que llena casi todo el cuerpo celular. Es dificilísimo percibir los contornos celulares. Los elementos confinantes con la papila son prismáticos y están dirigidos perpendicularmente á la superficie de la misma.

Entre estos corpúsculos se ven en los pelos negros y castaños, multitud de células melánicas, fusiformes y estelares, análogas en un todo á las que habitan en las capas medias de la coroides. La dirección de estas células es convergente á la papila, cerca de la cual ofrecen su más gruesa extremidad. Por sus extremos periféricos, que son delgadísimos, se insinúan entre las células del bulbo á desiguales alturas. Tales corpúsculos melánicos me parecen ser células emigrantes conjuntivas cargadas de pigmento que penetran activamente en los intersticios del tejido bulbar (1). Fúndome en que en muchas papilas se ven células melánicas no del todo ingeridas entre las células del bulbo, es decir, con el cuerpo fuera y algunas expansiones dentro de aquél, y en que, en los pelos de regeneración, se encuentran en la papila y parajes limítrofes cantidad de células conjuntivas melánicas que desaparecen en los pelos ya formados. Por lo demás, estas células constan de un núcleo voluminoso, exento de melanina y de un protoplasma ramificado lleno de pequeñísimas esferas de esta materia (fig. 68, e, d).

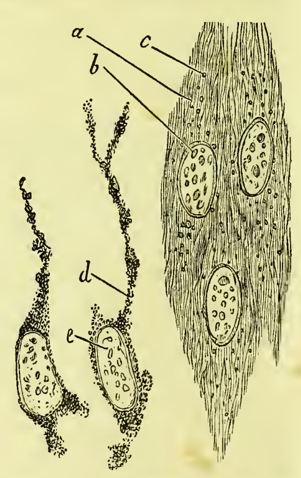


Fig. 68.—A la izquierda se ven dos células melánicas del bulbo piloso, en las que *e* representa el núcleo, y *d*, una prolongación protoplasmática. A la derecha se ven tres células estriadas de la capa cortical del bulbo piloso: *a*, fibrillas del retículo; *b*, núcleo; *c*, granos de melanina.

(1) Cuando esto escribíamos (1885) ignorábamos la existencia de un trabajo de Riehl (*Vierteljahrsschr. f. Dermat. u Syph.*, 1884) en que se defiende también el origen conectivo de las células pigmentarias del pelo. Después de Riehl, han confirmado esta misma doctrina Aebi (*Med. Centralblat.*, 1885, n.º 16) y Kölliker. (*Handbuch des Gewebelehre des Menschen, 6, Auflage,* 1889.)

También se encuentran células melánicas, estelares y fusiformes en la zona periférica del bulbo, inmediatamente por debajo de la fila celular destinada á formar la cutícula ó epidermis del pelo. Estas células se transforman perdiendo su aspecto celular á medida que son arrastradas hacia arriba por el crecimiento del pelo. Algunas centésimas por encima del bulbo quedan reducidas ya á simples grumos melánicos irregulares sin núcleo. Por último, estas células están en el tallo piloso representadas por series de granulaciones longitudinales é intersticiales que estrían la capa vertical, á partir de la cara interna del epidermis del pelo.

En la región del bulbo, situada al nivel del vértice papilar, comienzan las células de aquél á diferenciarse en familias celulares de forma y situación característica.

Ya hemos visto cómo las capas más periféricas originaban las túnicas de la vaina interna de la raíz. Veamos ahora las diferenciaciones propias del tejido del pelo.

2.—*Tallo piloso*. Consta de tres capas epiteliales concéntricas: 1.ª, la cutícula ó epidermis; 2.ª, la capa cortical; 3.ª, la médula.

Cutícula. Cuando se examina un pelo á lo largo, se descubren en su superficie unas líneas transversales arqueadas, sinuosas, que recuerdan los dibujos del tronco de la palmera. Enfocando los bordes del pelo, preferentemente en su raíz, se nota que cada línea corresponde á un pico ó eminencia, cuya reunión presta al contorno piloso un aspecto de sierra. El examen de una sección de la raíz del pelo da la clave de estas apariencias, demostrándonos que éste está recubierto por unas células cuadrilongas, transparentes, homogéneas, y, sobre todo, imbricadas á la manera de las escamas de un pez ó las pizarras de un tejado (véase fig. 69, c).

Origínase esta capa, que acompaña al pelo en toda su extensión, en las células del bulbo, por debajo de las de la cutícula de la vaina. A diferencia de éstas, los corpúsculos originarios del epidermis piloso son más grandes (8 ó 9 μ de largos por 6 μ de anchos), de forma cúbica y perpendicularmente dirigidos á la superficie del bulbo; su núcleo elipsoideo es oblicuo al eje de las células, marcando ya tendencia á la imbricación. Algo más arriba, las células se aplanan y alargan, inclinándose ligeramente (véase la fig. 67, D y 66, f); y por último, algunas centésimas encima del bulbo aparecen comple-

tamente imbricadas. Hasta cerca de la mitad de la raiz conservan el núcleo, mas luego desaparece éste y todo rastro de protoplasma, transformándose en delgadísimas escamas cristalinas.

Capa cortical del pelo. En su origen la forman células emanadas del bulbo, mucho más grandes que las de éste, de forma poliédrica alargada y de ligero matiz moreno en los pelos negros. Los núcleos son muy visibles y alojan un nucleolo esférico. Pero el carácter más interesante de estas células es un magnífico retículo donde casi todas las fibras son longitudinales (fig. 68, a, c). Estas hebras, de notable refringencia, pasan barrenando el cemento, de un elemento á otro, pero sólo en el sentido longitudinal del pelo. Conforme las células ganan altura, se alargan, los hilos del retículo se engruesan, los núcleos se atrofian, quedando en las regiones extrafoliculares del pelo, reducidos los elementos á prismas delgados, morenos, diáfanos, surcados por líneas paralelas brillantes (restos del retículo), y separados por espacios ó vacuolas longitudinales que encierran gránulos melánicos (1).

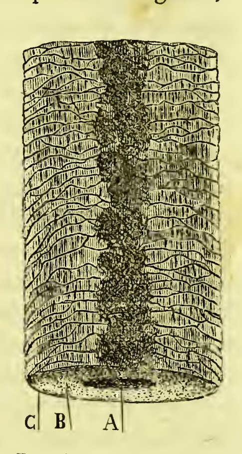


Fig. 69.—A, médula del pelo; B, substancia cortical; C, epidermis del pelo.

Médula del pelo. De las células del bulbo que cubren el vértice de la papila, proceden los elementos medulares. Distínguense de los corticales por su dirección, que es transversal, por su forma poliédrica más corta, por su núcleo elíptico dirigido de través, al revés del de las células corticales que yace á lo largo del pelo por no contener materia melánica intercelular, y sobre todo, porque el protoplasma que tales elementos contiene, aunque finamente reticulado, no se transforma en hebras gruesas, brillantes y longitudinales. No es raro ver estas células asociadas en grupos ó familias superpuestas, separadas á favor de una prolongación

(1) La opinión de que las estrías longitudinales de la capa cortical del pelo representan hilos del retículo protoplásmico y no células adelgazadas como creía Kölliker, ha sido defendida por Waldeyer *(Fesschrift. für Henle,* 1882, y *Atlas der menschl. u. thier Haare,* 1884).

transversal de materia cortical. Es de notar, que tanto el núcleo como el aspecto granuloso del protoplasma, se conservan hasta mayor altura que en los elementos corticales. No obstante, hacia la mitad de la raíz las células se achican, el núcleo se atrofia, adquiriendo cierta homogeneidad, y el protoplasma se coarruga y keratiniza.

A veces, la substancia medular termina por una especie de fondo de saco dentro de la raíz, por manera que el resto del tallo piloso es sólido y homogéneo. Esta es la regla general en el vello y en casi todos los cabellos jóvenes, cualquiera que sea su color. En los pelos gruesos y viejos la materia medular se carga de pequeñísimas burbujas de aire que pueden invadir toda la porción central del tallo, produciendo la impresión de un cilindro lleno de granulaciones melánicas. Entre estas pequeñísimas burbujas no puede reconocerse el menor vestigio de las células medulares (véase la fig. 69, A).

En los cabellos canos se advierte constantemente esta cámara de aire, á la cual deben en parte su color blanco argentino. Pero además, se caracterizan las canas por carecer de pigmento y por presentar pequeñas criptas ó lagunas longitudinales aéreas en el seno de la materia cortical.

El cilindro aéreo del pelo, igualmente qne los espacios corticales, aparecen negros á la luz trasmitida y blancos á la refleja, propiedades que demuestran su contenido gaseoso. Esta opinión se corrobora cuando se examina un pelo sometido á la influencia del calor dentro de una gota de bálsamo: el aire dilatado se irradia en grandes burbujas por la trama cortical del pelo, disociándola y labrando en la cutícula, que es la parte que más resiste, pequeños resquicios por donde escapa.

Las esencias y bálsamos obran á la larga rechazando el aire y haciendo al pelo, por consecuencia, perfectamente diáfano.

El pelo rojo carece de médula y de cámara de aire, y toda su trama se muestra impregnada por un pigmento amarillo de ocre salpicado de estrías pardas longitudinales granulosas.

El cabello rubio ofrece igual composición, consistiendo sus tintas variadas en la mayor ó menor cantidad de estos pigmentos.

El color negro ó pardo de los pelos depende: 1.º, de una substancia morena difundida y como disuelta en las células corticales; 2.º, de granulaciones melánicas negras ó pardas interpuestas á estos elementos, las cuales son probablemente restos de las células emigrantes melánicas del bulbo.

La acción de la luz debe prestar también su concurso en la coloración

del cabello; pues es bien sabido cuánta mayor intensidad de matiz tiene el pelo en su tallo que en su raíz.

D.—**Propiedades fisiológicas del tejido piloso.** Este tejido carece de propiedades vitales en su tallo, pero no así en el bulbo, encima de la papila, cuyos elementos blandos y protoplasmáticos son asiento de activa proliferación. Nútrense estas células por imbibición de los plasmas de la papila, y así se observa que cuando ésta falta ó se atrofia, el pelo cesa de crecer.

No se conocen nervios en el bulbo piloso; bien que es probable que existan como en el epidermis cutáneo y en el corneal.

El crecimiento del pelo tiene lugar desde la papila hacia la superficie cutánea. En este movimiento, solo el bulbo y la vaina interna de la raíz toman participación; la externa, continuación de la capa malpigiana del epidermis, permanece indiferente, sirviendo como lecho ó canal de deslizamiento de la raíz del pelo.

E.—**Propiedades químicas.** Excepción hecha de las células del bulbo y las de la vaina externa de la raíz, los elementos pilosos están casi exclusivamente formados de keratina. Así que sus propiedades químicas son las de esta materia.

Cuando el pelo se macera por algún tiempo en ácido sulfúrico, la materia cortical se hincha y descompone en sus células constitutivas. Se desprenden primero las escamas de la cutícula pilosa bajo la forma de láminas delgadísimas y cuadrilongas, y se desintegran después en largos filamentos prismáticos las células de la región cortical. Esta descomposicion se acelera en el ácido sulfúrico caliente.

La potasa y la sosa hinchan las células pilosas, concluyendo por disolverlas.

La cantidad de las cenizas que la combustión del pelo proporciona, alcanza de 0'54 á 1'85 por 100. Hállanse en éstas el *sulfato* y *fosfato de cal, óxido de hierro* y *sílice.* El *azufre* entra por un 4 ó 5 por 100. La materia colorante del pelo es probablemente la melanina. Cierta cantidad de grasa impregna la totalidad del pelo prestándole la flexibilidad y brillo que le son característicos. Por lo demás, esta materia dimana de las glándulas sebáceas, cuyo contenido se vierte en la entrada del folículo.

F.—**Desarrollo del tejido piloso.** Del tercero al cuarto mes iníciase en el feto la formación de este tejido. Comienza en las cejas y cuero cabelludo por pequeños tubérculos ó grumos celulares que surgen en la cara profunda del cuerpo de Malpigio de la piel. Estos grumos adquieren la configuración de apéndices piriformes algo más anchos en su porción profunda que en su región superficial. En torno de ellos aparece luego una capa basal, anuncio de la capa vítrea, y más tarde una cubierta, construída á expensas del dermis, que será con el tiempo la capa conjuntiva del folículo. En la masa celular del apéndice piriforme se inicia una diferenciación en dos zonas: una periférica (vaina externa de la raíz) y otra central (bulbo piloso y vaina interna). Y mientras la primera capa queda estacionaria, aumentando solamente en anchura y espesor, la segunda crece en longitud, muévese hacia la superficie epidérmica, horada la capa córnea, y da margen al pelo embrionario. Al mismo tiempo, la zona periférica de la raíz adquiere diafanidad, distinguiéndose del bulbo constituído por células opacas y granulosas, con lo que resulta construída la vaina radicular interna. Fórmase luego la papila por crecimiento é invaginación del saco conjuntivo del folículo en la extremidad profunda del bulbo.

Regeneración del tejido piloso.—El pelo, una vez formado, tiene una duración limitada, y tarde ó temprano cae por desaparición de la papila y reabsorción de toda la parte profunda del bulbo y sus cubiertas. Cuando se practica un corte del cuero cabelludo del hombre adulto, encuéntranse siempre al lado de pelos robustos, cabellos atróficos á punto de desprenderse. Vistos á lo largo, presentan en su porción intracutánea la vaina externa de la raíz muy gruesa, formando un saco completo, dentro del cual, y á favor de espinas engranadas con sus células, nace la raíz del pelo. Ésta se halla constituída exclusivamente por materia córnea. Del extremo convexo inferior de la vaina externa parte un cordón epitelial delgado que termina en una extremidad engruesada y ahuecada por una papila rudimentaria. Ahora bien; á expensas de este cordón y con arreglo al mecanismo ya descrito de la génesis embrionaria del pelo, se engendra el nuevo órgano que ha de reemplazar al caduco, el cual cae precisamente por la presión ejercida por el de nueva formación en su crecimiento ascensional.

G.—**Preparación del tejido piloso.** El mejor proceder consiste en las secciones ya longitudinales, ya transversales, tanto de los pelos como de los folículos pilosos.

Para seccionar los pelos de través, se los engloba antes en el colodión seco y se utiliza una navaja de filo fuerte (Latteux). En las piezas así dispuestas podrán igualmente ejecutarse cortes longitudinales.

Los cortes del folículo y del bulbo podrán efectuarse fácilmente en los párpados, en el cuero cabelludo, en la piel del menton, etc. Son por su gran tamaño muy recomendables también los pelos táctiles y cavernosos del hocico del conejo, gato, perro, etc.

La induración tendrá lugar tratando en fresco estos tejidos por el alcohol fuerte y terminando por la goma pícrica y el alcohol absoluto. También cabe la induración al ácido crómico, bicromato de amoníaco, etc.; pero en todo caso se ultimará el endurecimiento por la goma ó por la celoidina, pues sólo así podrán lograrse secciones suficientemente delgadas.

Los cortes longitudinales, es decir, paralelos al eje del pelo, será conveniente ejecutarlos á mano libre, buscando primero, por sucesivas secciones de tanteo, un bulbo piloso que se presente paralelo á la superficie de sección. Una vez encontrado, se le reduce á delgadísimos cortes. Los mejores de éstos se desembarazan de la goma por maceración en el agua, se tiñen al picrocarminato y se montan en glicerina. La coloración al picrocarminato es preferible á las demás por lo bien que hace resaltar las varias capas del folículo. Así, el ácido pícrico tiñe exclusivamente de amarillo las partes keratinizadas del pelo, y sobre todo, la vaina interna de la raíz; el carmín impregna de rosa puro la cubierta conjuntiva del folículo y capa vítrea, de rojo intenso los granos de eleidina de la vaina de Huxley, y de rosa fuerte difuso los elementos originarios de la de Henle. En cambio, las células bulbares, sobre todo las que habitan por cima de la papila, se tiñen poco ó nada por el carmín.

En cuanto á los cortes transversales del folículo piloso, será preferible hacerlos con un microtomo de precisión (Thoma Jung). Con un poco de paciencia pueden obtenerse cortes seriales de á centésima de todo un folículo piloso. A este objeto convendrá trabajar sobre un pequeño trozo de piel palpebral ó craneana donde no se vean sino uno ó dos bulbos pilosos, á fin de distinguirlos bien en cada corte. Montadas en serie estas secciones, son admirablemente demostrativas de todas las particularidades descritas en el folículo y raíz del pelo. En ellas cabe seguir paso á paso el proceso de eleidinización de la capa de Henle y Huxley, la penetración de los apéndices de las células de ésta en los intersticios de aquélla, la aparición de la keratina, el origen de la vaina externa, etc.

La demostración de la cutícula del pelo, y aun de los elementos de la vaina interna, puede también realizarse examinando en glicerina un pelo recién avulsionado.

El estudio de los elementos de la capa cortical exige el empleo del ácido sulfúrico. Basta macerar durante veinticuatro horas un pelo en este líquido para observar las escamas de la cutícula dispersas y los elementos corticales semidisgregados, erizando de puntas toda la superficie del pelo. Esta disociación se completa macerando el pelo en el ácido sulfúrico caliente. Para conservar estas preparaciones, se lavan bien las células á fin de arrastrar el ácido y se montan sin teñir en glicerina ó bálsamo.

TEJIDO DE LAS UÑAS.

Las uñas son órganos laminares, cuadrilongos, formados exclusivamente por el epidermis córneo de la piel engruesado y condensado de un modo especial. Alójase este tejido en un surco semicircular, más hondo por detrás que por los lados, que ofrece el epidermis de la cara dorsal de los dedos. La uña está constituída de muchas capas de células aplastadas, transparentes y duras, que contienen un núcleo discoideo más ó menos atrofiado. Examinadas estas células en fresco, no dejan ver ningún detalle; pero si se las trata primero con la potasa ó la sosa, se hinchan y redondean como las células epidérmicas, revelando una membrana y vestigios de un núcleo. Nótanse, al nivel de los bordes celulares, ciertas asperezas y granulaciones que nos parecen vestigios de los filamentos de unión.

El cuerpo malpigiano de la uña presenta los caracteres del de la piel, con el que se continúa al nivel de los surcos laterales de aquélla y de la extremidad del dedo. Unicamente es de notar que el epitelio interpapilar no forma, como en la piel, mamelones irregulares, sino crestas ánteroposteriores que se alojan en espacios interpapilares de la misma dirección. A consecuencia de esta disposición, los cortes ánteroposteriores de la uña muestran el epitelio unido en línea recta con el dermis, en tanto que las secciones transversales ofrecen la configuraeión en serreta propia de la piel.

Entre el epidermis córneo y cuerpo mucoso de la uña, no existe el estrato granuloso, pero se nota en cambio una faja granujienta, cuyos gránulos no son de eleidina, sino de otra substancia que se tiñe en moreno por el picrocarminato. Tal materia se conoce con la designación de substancia *onicogena* (Ranvier).

Toda la porción córnea de la uña tiene los caracteres del *stratum lucidum* de la piel. Como éste, aparece homogénea, dura y sin señales de descamación; y, á semejanza del mismo, se tiñe en amarillo brillante puro por el picrocarminato, en vez del amarillo vetado de rojo, que bajo la acción de este reactivo, adquiere la capa córnea superficial de la piel.

Pero si la uña adulta está representada exclusivamente en su porción córnea por el estrato lúcido, no sucede lo mismo con la uña embrionaria. Sobre el estrato lúcido hállase superpuesta una capa córnea análoga á la de la piel *(hyponichion);* mas del quinto al sexto mes de la vida intrauterina se desprende y queda la zona lúcida al descubierto. (Para más detalles véase el sistema cutáneo).

CAPÍTULO VI.

SANGRE.

1.—**Def.** La sangre es un tejido caracterizado por la presencia de numerosos corpúsculos discoideos, homogéneos, sin textura apreciable, separados por una materia fundamental líquida y espontáneamente coagulable.

2.—**Caracteres físicos y distribución.** El color de la sangre es rojo, oscilando entre el bermejo de la arterial y el rojo negro de la venosa; su olor es *sui géneris* y particular en cada especie de animal; su reacción alcalina; su temperatura en el hombre de 38 centigrados. El peso específico de la sangre es, por término medio, de 1.055, pudiendo variar dentro de límites bastante ámplios según el sexo, la edad y condiciones fisiológicas. En el hombre adulto la cantidad total de este líquido es de 5 á 6 litros, equivalentes al $^1/_{12}$ ó $^1/_{13}$ del peso total del cuerpo.

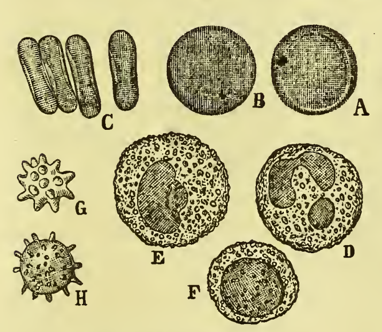


Fig. 70.—Glóbulos de la sangre humana.
A, hematíe visto de frente y enfocado en su ecuador; B, el mismo hematíe examinado levantando algo el objetivo; C, hematíes vistos de lado; G y H, hematíes alterados por un principio de evaporación del líquido; E y D, glóbulos blancos de gran tamaño; F, leucocito de pequeña talla.—Examen en estado fresco con el Ob. J. inmer. oc. 4 Zeiss.

La sangre está esparcida por casi todos los órganos y tejidos de la economía, y yace encerrada dentro del sistema vascular. No

obstante, esta localización en los vasos, sólo es valedera para los glóbulos; el plasma ó materia intercelular se escapa á través de los capilares é inunda y empapa los intersticios orgánicos. En el seno de este plasma extravasado es donde viven todos los elementos anatómicos, y sólo con relación á este líquido cabe designar á la sangre el *medio interior* del organismo. (Cl. Bernard.) De tal medio ambiente adquiere el protoplasma las materias que han de servir para su nutrición, y á él vienen á parar los residuos de las combustiones y las materias segregadas. La sangre es, pues, á la vez que el río que fecunda, la cloaca que recoge las escorias de la vida celular.

No toman todos los tejidos iguales materiales de la sangre ni le añaden los mismos residuos, por lo cual en cada parte del cuerpo deben ser distintas las condiciones cualitativas y cuantitativas de este líquido. Con todo, estas variaciones afectan casi exclusivamente al plasma, no á los glóbulos, y aun en aquél con tal rapidez se establecen las compensaciones nutritivas, que bien puede considerarse el líquido sanguíneo como un tejido de composición química y morfológica constante.

3.—**Composición anatómica de la sangre.** Examinado este líquido al microscopio exhibe cuatro especies de corpúsculos: los *hematíes* ó glóbulos rojos, los *leucocitos* ó glóbulos blancos, las granulaciones ó *globulines*, y las *plaquetas* ó hematoblastos.

De todas estas formas las más numerosas y más importantes son los hematíes, á los cuales debe la sangre su color, su peso específico y casi todas sus propiedades químicas y fisiológicas.

A.—*Hematíes.* Son unos corpúsculos redondeados, de contorno correctísimo, de homogeneidad perfecta, de tamaño sensiblemente igual, los cuales forman casi totalmente la sangre de los vertebrados.

Su tamaño es en el hombre de 7 á 8 μ de anchura por 2 ó algo menos de espesor. Pertenecen, por consiguiente, á la categoría de los elementos enanos, y este carácter de exigüidad es común á los hematíes de todos los mamíferos. En las aves, peces, y sobre todo, en los batracios, aumentan de diámetro en armonía con el de los demás elementos anatómicos.

Entre los hematíes más pequeños que se conocen están los del carnero, que no pasan de 4 y $^1/_2$ μ, y entre los más grandes los del proteo que alcanzan 56 á 60 μ. Dentro de estos límites extremos

figuran los del mono *(cercopithecus)*, con 0'0067; los del perro, con 0'0067; los del gato, con 0'0056; los del caballo, con 0'005; los de la paloma, con 0'009; los del lagarto, con 0'027; los de la rana, con 0'022; los de la salamandra, con 0'040; los del pleurodelo Walti, con 0'035, etc.

El número de hematíes es de 4 $^1/_2$ á 5 millones en milímetro cúbico.

Su color, cuando se examinan á la luz trasmitida, es de un amarillo pálido que tira á verdoso, matiz que se acentúa en los bordes. En los puntos donde aparecen superpuestos varios glóbulos, el tono se hace más intenso, llegando á rojo perfecto cuando la capa de sangre es algo gruesa. Así se comprende que la sangre en gotas sea bermeja y amarillenta en delgada capa.

La presencia de corpúsculos colorados en suspensión, presta á la sangre esa semiopacidad y ese color rojo claro que la hacen en un todo comparable con el aspecto ofrecido por el agua que lleva gránulos de carmín en suspensión. Si, á beneficio del alcohol ó del éter, se determina la solución de la hemoglobina en el plasma, la sangre pasa bruscamente á un tono rojo negro transparente, de igual manera que el carmín de la citada mezcla cuando se le disuelve por el amoníaco.

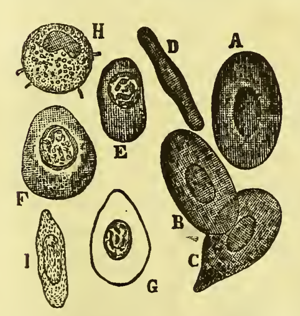


FIG. 71.—Glóbulos de la sangre fresca de rana.

A. Hematíe normal visto de frente; C, hematíe deformado; D, otro visto de perfil; E, hematíe pequeño con núcleo reticulado muy visible; F, otro idéntico, pero con un cuerpo celular más voluminoso; G, hematíe de cuerpo casi invisible sin hemoglobina y hialino; I, plaqueta; H, leucocito que comienza á emitir apéndices sarcódicos.

La forma de los hematíes del hombre y mamíferos es la de un disco perfectamente circular con caras excavadas y borde redondeado. Por excepción, los del camello ofrecen (entre los mamíferos) la forma elíptica.

Vistos de canto los glóbulos humanos, se muestran como unos bastoncitos de bordes rectos y de extremos redondeados. A través de la tinta rojiza del borde se distinguen unas líneas curvas que marcan la concavidad de las dos caras del glóbulo (fig. 70, C). Haciendo abstracción de los contor-

nos rectos poco visibles, el hematíe ofrece una forma abizcochada que es la que los autores representan.

Los hematíes de la rana, y en general los de los batracios, peces, reptiles y aves, son elípticos y presentan también examinados de perfil la forma en bastoncito, pero con una eminencia al nivel de la concavidad central que corresponde al núcleo (véase la fig. 71, D). Los glóbulos de los ciclóstomos, aunque nucleados, ofrecen por excepción, forma redondeada.

Extructura. Los glóbulos rojos de la sangre fresca de los mamíferos son completamente homogéneos. Aun con los mejores objetivos es imposible descubrir en ellos el menor vestigio de cubierta, de núcleo y protoplasma. No obstante, tratados en fresco por el ácido acético diluído, revelan un doble contorno muy correcto, indicio de la presencia de membrana. Esta cubierta ó capa cortical es finísima (menos de 0'2 de μ), homogénea, elástica, colorable ligeramente por las anilinas en solución ácida é inatacable por el agua y ácidos débiles.

Textura de los glóbulos rojos en los vertebrados ovíparos.—Los hematíes de los demás vertebrados ofrecen el mismo aspecto de homogeneidad, pero exhiben además un núcleo elipsoideo, granuloso, situado en el centro del hematíe y paralelamente dirigido á su diámetro mayor. Este núcleo es apenas perceptible en los hematíes vivos, por ejemplo, cuando se los observa en el interior de los vasos y en plena circulación. Con todo, auxiliándose de un buen objetivo de inmersión, se los llega á detallar perfectamente, apareciendo como una masa homogénea, algo más obscura que el cuerpo celular. Si se añade una gota de agua al preparado en observación, el hematíe pierde su hemoglobina, y el núcleo se destaca vigorosamente y con aspecto granuloso. Apariencia análoga muestran estos núcleos tratados en fresco por el ácido ósmico; pero si se añade en seguida al preparado una solución acetificada de verde metileno, el núcleo aparece teñido de verde intenso, mostrando un retículo cromático apretado (fig. 72, B). A veces los hilos de nucleína parecen contínuos, dis-

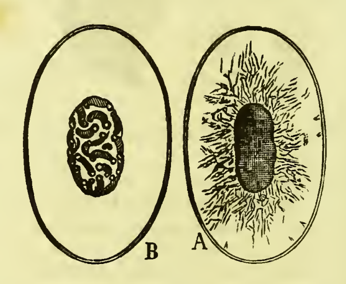


Fig. 72.—A. hematíe de rana tratado por el verde metilo acetificado; B, hematíe fijado primero al a. ósmico y teñido después al verde metileno.

poniéndose en glomérulo; pero con más frecuencia se presentan reticulados. Es de notar que la solución metílica sola tiñe el núcleo en verde homogéneo donde ningún detalle se descubre (fig. 72, A). Los mejores resultados para la revelación de la textura nuclear se obtienen en los parajes en que el ácido ósmico ha obrado débilmente.

El jugo nuclear es homogéneo y absolutamente incoloro. En cuanto á la cubierta nuclear acromática, no puede percibirse. De existir ésta, debe ser muy delgada y elástica, pues frecuentemente forman los hilos eminencias y depresiones en la perifería nuclear, sin que sea dable apreciar en estos puntos desprendimientos de la membrana.

La solución acetificada del verde metileno y aun el ácido acético ó el agua usados separadamente, demuestran del modo más evidente la existencia de membrana globular. El ácido acético revela además un retículo protoplasmático de hilos cortos, torcidos y desiguales, acumulado especialmente en torno del núcleo. El ácido sulfúrico determina también en los hematíes frescos una reticulación que se diferencia de la anterior por ser más completa, apretada y opaca. Tanto ésta como aquélla nos parecen debidas á coagulaciones de las materias albuminoides del cuerpo del glóbulo. El yodo fija los hematíes, los tiñe de amarillo moreno y hace resaltar perfectamente la red cromática, la cubierta nuclear y la membrana globular.

Cuando se deposita en el borde de una preparación de sangre fresca de rana una gota de agua de modo que ésta se mezcle lentamente al plasma, se observa que los hematíes se arrugan, adquiriendo los pliegues una dirección irradiada desde el núcleo hasta la perifería. Kneuttinger y otros han tomado erróneamente estos pliegues por fibras protoplasmáticas que unirían el núcleo con la cubierta globular.

Tratados los hematíes por las soluciones salinas concentradas (fosfato de sosa, cloruro de sodio, etc.), se retraen haciéndose esféricos, pequeños y dentellados (fig. 70, G, H). Un principio de evaporación del plasma da lugar á resultados análogos, como puede fácilmente comprobarse observando una preparación fresca de sangre cerca del borde del cubre-objetos, paraje donde el plasma se concentra rápidamente por evaporación. Los hematíes se dentellan primeramente en su contorno, luego pierden la forma discoidea y se erizan de puntas por toda su superficie.

Diluyendo gradualmente los líquidos salinos concentrados, se llega á un momento en que los hematíes, tratados por aquéllos, dejan de retraerse, conservando la forma normal. La cantidad de cloruro de sodio precisa para arribar á este resultado, es de 1'50 á 1'55

por 100 de agua destilada. Este es el licor indiferente usado más comunmente para diluir la sangre en el examen y numeración de los glóbulos.

Las soluciones salinas más débiles, así como el agua, el alcohol flojo, los ácidos diluídos, etc., obran de distinta manera: los hematíes se hinchan en lugar de retraerse, adquieren forma esférica, y pierden rápidamente su hemoglobina, que se disuelve en el plasma. La parte insoluble y blanca del hematíe (estroma), desaparece á poco, no por destrucción, sino porque su índice de refracción se iguala en su nuevo estado con el del plasma. No obstante, siempre quedan algunos hematíes que no acaban de perder su materia colorante y permanecen visibles.

Los ácidos minerales y los álcalis disuelven los hematíes; la bilis obra de igual suerte. El alcohol, el ácido ósmico, el ácido crómico, los fijan cuando se aplican en solución concentrada, determinando la coagulación de las materias albuminoides del estroma; pero usados en soluciones diluídas, obran casi como el agua, hinchando el hematíe y despojándole de su hemoglobina.

Los hematíes, sometidos á la temperatura de 52°, á favor de la platina caliente, sufren singulares transformaciones. Aparecen primero ciertas eminencias redondeadas en su masa periférica que luego se pediculan y rompen, acumulándose bajo la forma de esferas hialinas y amarillentas de vario tamaño, en las cercanías del glóbulo. A veces se construyen verdaderos rosarios de esferitas unidas entre sí por ténues hilos que se estiran sin romperse ni separarse del cuerpo globular.

Estas mismas alteraciones se observan en estado fresco y á la temperatura ordinaria en los hematíes jóvenes de la rana. Ellas prueban que la materia globular es sumamente extensible y dúctil. En este mismo animal ofrecen los hematíes de las preparaciones ejecutadas de algún tiempo numerosas vacuolas y fragmentaciones del cuerpo hemático.

La desecación de la sangre, cuando es rápida, conserva bien el tamaño y forma de los hematíes; pero si es lenta, éstos adquieren disposición muriforme y aun completamente irregular. Si la gota de sangre desecada es algo gruesa, los glóbulos aparecen confundidos y acumulados en bloques irregulares.

Sobre la textura de los hematíes de los mamíferos, se han expuesto diversidad de opiniones. Elsberg *(The structure and other characteristics of coloured blood-corpuscules.* An. of. the New-York Acad. of Scien. vol. 1.º 1879) afirma que el hematíe se compone de una masa de bioplasma (protoplasma) reticulado.

Ciertos autores han descrito núcleos; Böttcher (1866) pretendió ya haberlos descubierto en los hematíes del gato, y Stricker *(Vorlesungen über allgemeine und experimentelle Pathologie)* asegura haberlos percibido en los hematíes frescos á favor de grandes aumentos. El núcleo ocupa, en sentir de este autor, casi todo el glóbulo, quedando no más en la perifería delgadísima zona de protoplasma. Este núcleo sería colorable por la hematoxilina. Es indudable que Stricker así como Böttcher han sido víctimas de una ilusión, pues la región central del hematíe ni posee los caracteres morfológicos, ni las reacciones químicas de la nucleína. Además, el núcleo de los hematíes verdaderamente nucleados (sangre de vertebrados ovíparos, hematíes embrionarios de los mamíferos, células rojas de la médula ósea) en nada discrepa del de los demás elementos.

La existencia de membrana globular fué ya indicada por Schwann *(Ueber die Uebereinstimmung in Structur und Wachstum der thierischen und Pflanzlichen Organismen.* Berlín, 1839, p. 74), bien que este autor no logró demostrarla *de visu.* Aducía en apoyo de su aserto los hechos bien conocidos de la hinchazón del hematíe, sometido á la acción del agua, y la retracción y fruncimiento determinados por las soluciones salinas concentradas: en el primer caso suponía Schwann que la cubierta se dilataba por endósmosis del agua, y que en el segundo se retraía por exósmosis de parte del contenido globular. M. Schultze y Brücke *(Berichte der Wiener Akademie.* B. XLIV, p. 389) combatieron este modo de ver, estimando tales hechos susceptibles de distinta interpretación. Este último, apoyándose en los efectos producidos en los hematíes por ciertos reactivos (ácido bórico al 2 por 100), consideraba el cuerpo globular homogéneo y descomponible en dos substancias: una incolora, porosa, blanda que llamó *Oekoide;* y otra amarillenta ó pigmentaria (hemoglobina) que designó *Zooide.* Parecida opinión había ya expuesto Rollet *(Sitzungsberichte der Wiener Akademie.* B. XLVI, B. XLVII, B. L), aunque bajo forma distinta. La membrana de los hematíes ha sido demostrada por Ranvier *(Recherches sur les élements du sang. Arch. de phys.* 1875, y por Sappey *(Les élements figurés du sang dans la serie animale.* 1882). La objeción que algunos han presentado contra la admisión de esta cubierta, recordando las alteraciones que el calor determina en los hematíes, cae por su base desde que, en los leucocitos é infusorios, células sujetas á mayores variaciones de forma, se ha demostrado también una cubierta.

B.—*Leucocitos ó glóbulos blancos.* Son unos corpúsculos esféricos de aspecto granuloso, absolutamente incoloros y dotados de contractilidad amiboide.

Su diámetro oscila (hombre), entre 8 y 11 milésimas, siendo, por consiguiente, mayores que los hematíes. Estas dimensiones absolutas varían poco en las distintas especies de vertebrados; mas no así las relativas por comparación con los rojos, por consecuencia de la magnitud considerable que éstos alcanzan en las aves, peces, batracios y reptiles. Así, en la rana, los leucocitos poseen una talla de 9 á 11 μ, y sus hematíes 20 á 22.

El número de leucocitos en cada milímetro cúbico de sangre, llega de 5.000 á 10.000 (Thoma y Halla). Por consiguiente, su cifra con relación á los hematíes es de 1 por 420 á 800. Esta cifra aumenta en la leucemia, en el embarazo, en la sangre del niño, después de la digestión y según circunstancias individuales mal determinadas.

La *forma* de los leucocitos es esférica mientras circulan por los vasos, pero en cuanto se extravasan se transforman, adquiriendo las más singulares disposiciones. (Véase el capítulo relativo á la fisiología del protoplasma).

Extructura. Bajo este aspecto cabe distinguir los leucocitos en dos especies: 1.ª, grandes con núcleo vegetante; 2.ª, pequeños con núcleo esférico.

1.—*Los primeros* poseen una talla de 11 á 13 μ. Preséntanse cuando se examinan en una gota de sangre fresca bajo el aspecto de una esfera finamente granulosa, de contorno obscuro y vigoroso. Enfocando con un fuerte objetivo la región ecuatorial del glóbulo, se echa de ver una zona de forma varia, de aspecto gris homogéneo, á cuyo nivel no existen ó son escasas las granulaciones protoplasmáticas. Esta zona es el núcleo. No es posible revelar en él durante la vida el menor rastro de retículo: solamente se nota que su contorno es más obscuro que el centro, como si la materia nuclear alcanzara más concentración en su periferia (fig. 70. E, D).

Este primer examen es muy útil, porque demuestra desde luego que el núcleo existe realmente en los leucocitos vivos, no siendo ni resultado de alteraciones cadavéricas, ni de los reactivos usados en su evidenciación; opinión que se corrobora todavía más, observando los leucocitos en plena contracción amiboide. En estos

(rana, salamandra, pleurodelo), no solo se ven los núcleos, sino que se advierte en ellos una textura muy semejante á la que los ácidos determinan.

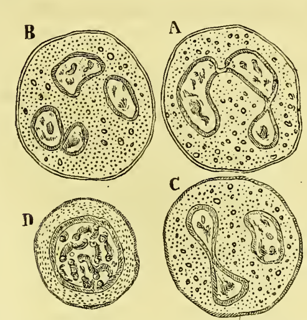


Fig. 73.—Leucocitos de la sangre del hombre tratados por el violado de dalia acetificado.

A, leucocito de núcleo vegetante, lobulado; B, leucocito con núcleo en vías de multiplicación; C, leucocito con un núcleo abizcochado; D, leucocito pequeño de núcleo único.

Por lo demás, un buen estudio del núcleo no puede hacerse sin la ayuda de las materias colorantes. Casi todas las anilinas usadas en simple solución acuosa (violeta y azul de metilo, violado de dalia, etcétera), hacen aparecer claramente el núcleo de los leucocitos. La muerte del glóbulo, la acción del agua, del ácido ósmico, son condiciones bajo las cuales se revela. Pero nada mejor á este fin que el ácido acético mezclado al verde metileno. Este reactivo se fija solamente en la parte cromática del núcleo, proporcionando imágenes tanto más correctas cuanto que el protoplasma permanece absolutamente incoloro (figura 73).

Observando estas imágenes con un objetivo fuerte ($^1/_{18}$ Zeiss) se advierten en el núcleo tres partes: 1.ª, una membrana cromática gruesa de 0'5 á 1 μ que limita todo el núcleo, prestándole el brillo y refringencia que le son peculiares; 2.ª, hilos moniliformes, más ó menos largos, á veces tan cortos que semejan gránulos, los cuales nacen de la cara interna de la membrana enlazándose entre sí, y 3.ª, un jugo interfilar diáfano ó ligeramente granuloso, cuya abundancia varía en cada núcleo. Es imposible percibir cubierta acromática, lo que bien puede depender de su extrema delgadez.

La forma nuclear es variadísima. Puede afirmarse que todas las variantes de configuración corresponden á las distintas fases de división gemípara de un núcleo vegetante. Los tipos morfológicos más frecuentemente reproducidos, son: 1.ª, semilunar con prolongaciones mamelonadas, á veces pediculadas, que recuerdan el núcleo ramificado de las células de los tubos hileros de los lepidópteros; 2.ª, reniforme más ó menos prolongado; 3.ª, disposición en guitarra ó

de bizcocho con extrangulación central; 4.ª, fragmentado en varias esferas de pequeño tamaño. Esta última forma, que puede asociarse á las demás, es el tipo predominante en los glóbulos de pus, en los elementos de la saliva y los del moco. Frecuentemente, los mamelones ó yemas que surgen del núcleo principal están unidos entre sí por delgadísimos puentes, donde á duras penas puede seguirse una prolongación de la capa cromática (fig. 73, A, C).

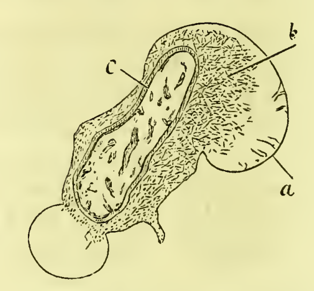


Fig. 74.—Leucocito de rana tratado por el verde metileno acetificado; *a*, cubierta; *b*, retículo protoplasmático; *c*, núcleo y cubierta cromática.

No existen nucleolos verdaderos. Aparentan serlo algún recodo grueso de los hilos de cromatina ó algún trozo suelto de esta substancia.

El protoplasma aparece, examinado en el vivo, finamente granuloso. Ciertos leucocitos contienen granos más gruesos y refringentes, formados evidentemente por grasa. Ranvier ha demostrado en algunos la presencia de la materia glicógena.

Ehrlich (1), que ha hecho un estudio especial de la naturaleza de las granulaciones de los leucocitos, las divide en tres categorías: 1.ª, *basófilas,* colorables solamente por las anilinas básicas (violeta de genciana, etc.); 2.ª, *eosinófilas,* tingibles especialmente por la eosina y demás anilinas ácidas (rosanilina, verde de malaquita); y 3.ª, *neutrófilas,* ó las que se tiñen exclusivamente por los reactivos neutros.

De todas estas especies, las más frecuentes son las *eosinófilas,* de forma esférica ó alargada en bastoncito corto, de gran refringencia, y muy semejantes por su apariencia á las de grasa. En la médula de los huesos abundan sobremanera leucocitos con tales granulaciones.

Examinando con un objetivo de inmersión homogénea el protoplasma de un leucocito fuertemente transformado y previamente tratado por el agua acética, se percibe claramente una red filamento-

(1) Ehrlich. *Methodologische Beiträge zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen der Leucoyten.* Zeitschrift fur klinische Medicin. B. I, página 533, 1880.

sa desigual, en cuyas mallas se encierran las granulaciones mencionadas, además de un jugo celular transparente. Esta red la forman hilos divergentes que se hacen especialmente visibles en la periferia y en las partes más delgadas del protoplasma (fig. 74, b).

La cubierta de los leucocitos no es demostrable en el vivo, pero se manifiesta claramente en los glóbulos tratados por los ácidos, preferentemente por el verde metileno acetificado. Bajo la influencia de este reactivo el leucocito se hace más transparente, y de su parte periférica surgen eminencias que se van agrandando hasta romperse. Estas jibas formadas por el líquido que ha penetrado endosmósicamente en la célula, están limitadas por una pedicula transparente, finísima de menos de 0,1 de μ), homogénea, la cual no puede interpretarse sino como una cubierta celular despegada del protoplasma (véase fig. 74, a). El contorno exterior de la misma es liso; el interior, aunque correcto también, ofrece algunas veces trozos adheridos del retículo celular que la violencia de la corriente endosmósica ha arrancado de la periferia de éste (fig. 74, a).

Tratados previamente los leucocitos por el ácido ósmico, la membrana se fija y el agua no determina las abolladuras mencionadas. La potasa disuelve la membrana, reduciendo todo el leucocito á una masa informe de granulaciones.

2.—*Los leucocitos de la segunda variedad* son pequeños (de 5 á 9 μ), esféricos, fuertemente granulosos, y encierran un núcleo grueso, redondeado, que llena casi todo el cuerpo celular. La cubierta cromática del núcleo es semejante á la de los leucocitos grandes; pero los hilos cromáticos interiores son más numerosos y apretados. En ocasiones parece que todo el armazón de nucleína está formado por las circunvoluciones de un hilo contínuo (fig. 73, D).

C.—*Plaquetas sanguíneas.* Cuando se observa la sangre circulante de un pequeño mamífero (conejillo indiano, rata, etc.), se advierte que por los vasos circula, á más de los leucocitos y hematíes, una tercera variedad de elementos. Son éstos unos glóbulos aplanados ó biconvexos, incoloros, viscosos, ligeramente granulosos y de contorno correcto y redondeado. Su talla oscila entre 2 y 5 μ. Descompónense rápidamente tan pronto como se ponen en contacto del aire y tienen particular tendencia á reunirse en *zogleas* ó acúmulos de varia extensión.

Las plaquetas son mucho más abundantes que los glóbulos blancos. Un mil. cúb. de sangre contiene 245.000 plaquetas, ó sea 1 por cada 20 hematíes.

En la sangre del hombre extraída mediante picadura de los capilares, se observan también las plaquetas, pero á condición de operar lo más rápidamente posible. A los pocos instantes, han sufrido ya grandes metamórfosis; tórnanse espinosas, ásperas, menos voluminosas, y de sus ángulos parten tenuísimos hilos que inician la formación de la red fibrinosa.

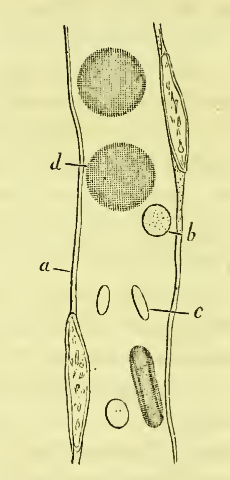


Fig. 75. — Vaso capilar del mesenterio del conejillo de Indias. — Examen en vivo. *b* y *c*, plaquetas; *a*, pared vascular; *d*, hematíes.

Mezclando la sangre en el mismo paraje de la picadura capilar con el liquido *sodometílico* de Bizzozero (*Agua*, 100; *cloruro de sodio*, 0'75; *violeta de metilo*, c. s.), las plaquetas conservan mucho más tiempo su forma; se advierte entonces que su aspecto es finamente granuloso, como protoplasmático, sin huellas de núcleo. A veces se notan en medio de su masa, apenas teñida de violeta por el reactivo, uno ó dos granitos más intensamente teñidos. A la larga, las plaquetas de tales preparados se alteran, y la coagulación sobreviene, aunque incompletamente.

Este singular poder conservador de las plaquetas de que goza el violeta de metilo, lo posee también, según nuestras observaciones, el verde metileno, el violado de anilina, la vesubina, con tal de que se los aplique en las mismas condiciones que el reactivo de Bizzozero.

En las preparaciones de sangre pura rara vez aparecen aisladas las plaquetas; de ordinario se reunen en montones de extensión varia, fijándose sobre el porta ó cubre-objetos, preferentemente junto á los leucocitos ó en torno de cualquier cuerpo extraño. Esta disposición se explica por la viscosidad que las plaquetas adquieren tan pronto como se extravasan (en la sangre circulante no se adhieren á la pared vascular como los leucocitos).

Las plaquetas integrantes de dichos conglomerados se marcan

bien en un principio; luego sus contornos palidecen, esparciéndose entre ellas y en torno del acúmulo una substancia granulosa pálida, de donde los filamentos fibrinosos emanan (fig. 77, A).

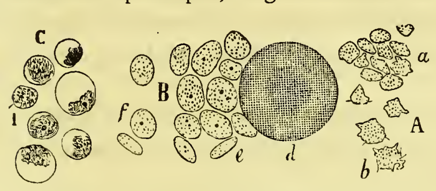


Fig. 76.—A, plaquetas de la sangre humana, observadas inmediatamente después de extraída de los vasos; *a*, plaquetas reunidas en zoglea; *b*, plaquetas sueltas y deformadas.—B, plaquetas de la sangre fresca recogidas en una gota de licor sódico-metílico; *d*, hematíe; *e*, plaqueta de perfil; *f*, plaquetas sueltas.—C, plaquetas tratadas por el verde metileno; se las ve divididas en dos partes: una hialina, rodeada de membrana, y otra protoplasmática retraída. Ob. J. im. Oc. 4 Zeiss.

Tratada la preparación por el verde metileno ó violado de dalia en solución ácida, las plaquetas se tiñen bien, pareciendo como que han disminuído de volumen. En torno de los acúmulos, se muestra una capa transparente limitada por finísimo doble contorno solamente apreciable á favor de poderosos objetivos. Esta materia diáfana no constituye una zona común, sino que forma un festón cuyos picos surgen del lado periférico de las plaquetas (fig. 77, B). Este fenómeno indica, á nuestro modo de ver, la presencia de una membrana fina, elástica, propia á cada plaqueta, separable de ésta por endósmosis del agua, de la misma suerte que la cubierta de los leucocitos (véanse las figs. 76, C y 77, B). La hinchazón de la membrana no se observa en las plaquetas situadas en el centro del acúmulo, sin duda porque su apretamiento y contacto es óbice en la producción del fenómeno.

Esta interpretación se confirma plenamente en las preparaciones cuyas plaquetas, fijadas previamente por el licor sodo-metílico, se someten después á la influencia de los ácidos, preferentemente del verde metileno acetificado. Bajo la acción de este último reactivo, las plaquetas se hinchan, tórnanse esféricas, y su materia se divide en dos partes: una granulosa, irregular, moderadamente teñida por el verde, y otra hialina, más extensa, incolora y rodeada por delicado doble contorno circular. En ciertos casos, este doble contorno (membrana de la plaqueta), se rompe, un líquido análogo al agua se mezcla al plasma, y los pedazos de la cubierta se aplican á la parte cromática retraída. Dan también lugar á semejantes fenómenos, bien que no son tan apreciables ni tan rápidos, el agua, la

maceración prolongada de las plaquetas en el plasma, etc. Resisten frecuentemente á estos tratamientos algunas plaquetas, ordinariamente las más pequeñas, sin mostrar rastro de la susodicha diferenciación (fig. 76, I).

El amoníaco, añadido á las preparaciones metiladas, destiñe las plaquetas, y revela en ellas una textura como fibrosa, apenas perceptible. La potasa las palidece todavía más, concluyendo por hacerlas desaparecer. Las demás reacciones de las plaquetas son las mismas del protoplasma.

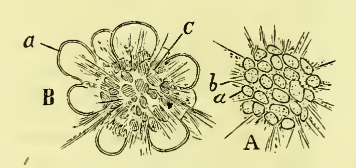


Fig. 77.—A, grupo de plaquetas en torno de las que hay una materia granulosa, de la que surgen los hilos fibrinosos (examen en la sangre fresca).—B. Este mismo grupo tratado después por el verde metilo ácido; *a*, cubierta de las placas distendidas; *c*, parte colorada de las plaquetas.

En suma: puede afirmarse que las plaquetas de los mamíferos son pedazos de protoplasma sin núcleo, extraordinariamente alterables, rodeados de una cubierta y conteniendo algunos gránulos cromáticos. ¿Podrían considerarse estos pequeños granos tingibles al verde metileno como vestigios de núcleo, y estimar, por tanto, las plaquetas como células perfectas, aunque enanas y altamente metamorfoseadas? ¿La plaqueta es un corpúsculo en vías de regresión ó de evolución? Nada cierto puede contestarse á estos extremos, por más que ciertos autores (Hayem) consideren las plaquetas como las formas jóvenes de los hematíes.

Plaquetas de los vertebrados inferiores. En las aves, reptiles, peces y batracios, cuyos hematíes son nucleados, las plaquetas lo son también. En la rana, animal que puede elegirse como tipo de estudio, las plaquetas aparecen muy claramente en la sangre circulante del mesenterio, bajo la forma de glóbulos blancos pálidos, ligeramente granulosos, alargados en forma de doble huso ó de elipse prolongada. Miden por término medio 14 μ de largas por 6 μ de anchas. Poseen un núcleo elipsoide que ocupa casi todo el corpúsculo, pues solo está envuelto por ténue capa de protoplasma transparente. Este núcleo aparece ya, aunque vagamente, en la sangre circulante y en la recién extraída; pero destaca mucho más en las plaquetas un tanto alteradas por la acción del aire. El licor sodometílico, el verde metileno ácido, el agua, etcétera, revelan en él una textura análoga á la que posee el núcleo de los

leucocitos, á saber: membrana cromática é hilos desiguales emanados de ésta y enlazados entre sí. A veces existe en el centro del núcleo una nudosidad paralela á su eje, especie de nucleolo prolongado que recibe los cordones cromáticos de un modo normal (véase la fig. 78, C) á su dirección.

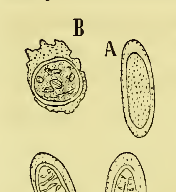


FIG. 78.--Plaquetas de la sangre de rana. A, plaquetas de la sangre circulante. B, plaqueta alterada de la sangre extraida. C y D, plaquetas tratadas primero por la solución sódico-metílica que las conserva y después por el ácido acético diluído. Se ve el núcleo con membrana cromática y cordones regulares de esta substancia. Ob. E. Oc. 5.

Las plaquetas de las ranas son viscosas y tienen también propensión á juntarse en *zogleas* de varia extensión. Se hacen además notar por una extraordinaria vulnerabilidad, tanto, que á los pocos instantes de extravasadas apenas si son reconocibles, confundiéndose fácilmente con los leucocitos pequeños monucleares. Si el examen se verifica con la rapidez suficiente, se puede asistir á todas las transformaciones de las plaquetas. Comienzan por disminuir gradualmente su longitud hasta hacerse esferoidales, acortamiento que alcanza también al núcleo; el protoplasma, antes finamente granuloso y correctamente limitado, se eriza de eminencias de forma variable, perdiendo refringencia y haciéndose casi invisible; por fin, en torno de la placa aparecen gotas hialinas, y la coagulación fibrinosa comienza.





FIG. 79.--Plaquetas de las aves (pato): *a*, hematie; *b*, plaquetas normales; *c* y *c*, plaquetas alteradas por el agua y con gotas hialinas en su exterior. Ob. E. Oc. 5, *Zeiss*.

Añadiendo una gota de agua acetificada á la preparación, se manifiesta por fuera del protoplasma y de sus gotas hialinas una delgada película. Cuando varias plaquetas concurren en zoglea, sólo es visible la capa hialina y cubierta protoplasmática en los lados excéntricos de las plaquetas periféricas.

D.—*Globulines*. Es frecuente encontrar en la sangre normal del hombre hematíes que solo se distinguen de los ordinarios por ser algo más pequeños y menos colorados.

Existen también en la sangre esferas y discos ya aplanados, ya bicóncavos, mucho más diminutos (de 1 á 4 μ de diámetro), de contorno limpio y redondo, homogéneos y ligeramente teñidos por la hemoglobina. A éstos sin duda pertenecen en gran parte los globulines que Hayem denomina *hematoblastos*, es decir, corpúculos productores de los hematíes. Mas careciendo tales corpúsculos de núcleo y

protoplasma, y hallándose en cantidad notable en el barro esplénico donde existen ruinas y *detritus* de hematíes, nosotros estimamos más probable la opinión de que tales globulines son fragmentos de hematíes en vías de destrucción. Por lo demás, Hayem confunde bajo una misma denominación, dos clases muy diversas de corpúsculos; las plaquetas, discos incoloros y granulosos, causa ó condición principal de la coagulación; y los globulines, discos ó esferas formadas de la misma trama que los hematíes, teñidos por la hemoglobina, absolutamente homogéneos, alterables como los glóbulos rojos, mas no como las plaquetas, é indiferentes en el acto de la coagulación. Más adelante expondremos y discutiremos la hipótesis de Hayem.

Según Norris, existirían también en la sangre ciertos corpúsculos esféricos, homogéneos, incoloros y absolutamente invisibles, los cuales vendrían á ser aparentes, empleando ciertos recursos técnicos. Pero los trabajos de comprobación emprendidos por los histólogos y la técnica usada por Norris con el fin de evidenciarlos, prueban que sus *corpúsculos invisibles* son simplemente hematíes comunes, los cuales, por virtud de maniobras de preparación, han perdido su hemoglobina, igualando su índice de refracción con el del plasma. Lo único á que han conducido estas experiencias es á la demostración de la existencia de hematíes, que pierden más fácilmente la hemoglobina que otros, como ya la acción del agua sobre los hematíes frescos lo patentiza.

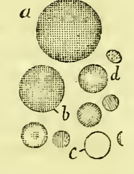


Fig. 80. Globulines de la sangre humana: *a*, hematíe normal; *b*, hematíe enano; *c*, esfera hialina incolora; *d*, esférulas de hemoglobina.

Vénse además en la sangre granulaciones albuminoides irregulares, restos quizás de leucocitos, y granitos grasientos envueltos en delgada pedicula albuminoide, originarios verosímilmente del quilo que en gran número los contiene.

4.—**Composición química de la sangre.** 1.ª—*Hematíes.* Los glóbulos rojos constan de dos substancias principales: la *hemoglobina* y *el estroma.*

La hemoglobina es un principio albuminoide colorante que impregna uniformemente los glóbulos rojos, dándoles el color y refringencia que les son característicos. Cuando los hematíes se tratan

por el agua, alcohol, éter, etc., la hemoglobina los abandona, disolviéndose en el plasma, en donde, si la solución es saturada, cristaliza prontamente. Los cristales de hemoglobina son agujas prismáticas ó láminas romboédricas en el hombre y casi todos los mamíferos, tetraedros y octaedros en el conejo indiano, y láminas exagonales en la ardilla. En la sangre arterial esta materia hállase combinada al oxígeno, constituyendo la *oxihemoglobina,* de color rojo claro, caracterizada al examen espectroscópico por presentar dos bandas desiguales de absorción entre las rayas D y E del espectro solar (véase la fig. 82, A). La oxihemoglobina pierde su oxígeno en la sangre venosa, cambio que el espectroscopio denuncia mostrando entre las referidas rayas D y E, una sola banda ancha denominada de *reducción de Stockes* (fig. 82, C). Posee la hemoglobina mayor afinidad todavía por el óxido de carbono que por el oxígeno, formando con aquel gas la hemoglobina oxicarbonada, cuyas bandas de absorción son algo parecidas á las de la oxihemoglobina (fig. 82, B). Cuando la hemoglo-

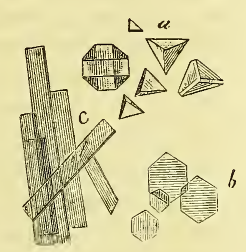


Fig. 81.—Cristales de hemoglobina: *a,* del conejo indiano; *b,* de la arcilla; *c,* del hombre.

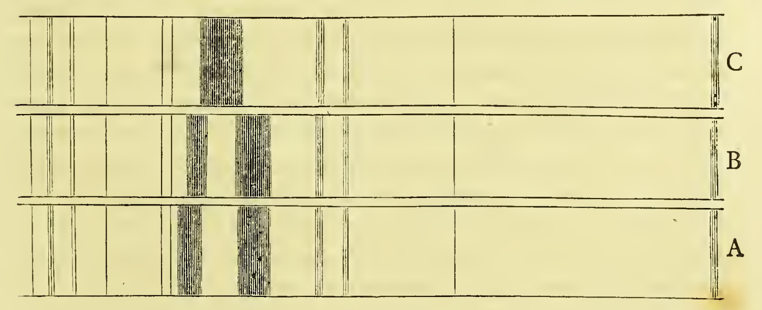


Fig. 82.—A, Espectro de absorción de la oxihemoglobina; B, de la hemoglobina oxicarbonada; C, de la hemoglobina reducida.

bina se descompone, bien espontáneamente, bien bajo la acción de los ácidos débiles, se desdobla en un albuminoide *(globulina* de ciertos autores), y en proporción de 96 de aquélla por 4 de ésta. (Para más detalles véase *hematosina,* en Estekiología, p. 152 y 153).

El estroma es la materia albuminoide que queda en los glóbulos rojos privados de su hemoglobina. La cantidad de aquél con relación á ésta es como 1 es á 13. Así se comprende que el glóbulo sin la materia colorante sea tan poco refringente y casi invisible. El estroma es hialino y homogéneo en los hematíes frescos, reticulado y granuloso en los tratados por los ácidos.

Puede estimarse el estroma como un retículo protoplasmático, transformado, que encierra dentro de sus mallas, como principal inclusión, la hemoglobina.

El análisis total de los glóbulos rojos da para cien partes de éstos: 85 de *hemoglobina,* 12 de *globulina* (estroma), 2'32 de *fosfato y cloruro potásico,* 0'35 de *hierro* y 0'33 de *grasa.*

2.—*Composición del plasma.* El plasma de la sangre es una materia fundamental líquida, sin propiedades morfológicas, comparable á la del tejido conjuntivo embrionario, con la diferencia de que en éste ocurre tempranamente la fibrilación de la materia fundamental líquida, y en la sangre este proceso solo tiene lugar después de la muerte ó en circunstancias patológicas, mediante la cristalización de la fibrina. La sangre es, pues, un tejido conjuntivo detenido en cuanto á la evolución fibrilar de su materia amorfa.

La composición del plasma es complejísima. Puede decirse que encierra todos los principios, tanto de organización como de desasimilación de los tejidos. En 1.000 partes de plasma hay: 2 ó 3 de *fibrina seca* (15 húmeda); 70 á 75 de *albúmina* ó *serina;* 1 á 3 de *peptona;* 2 á 4 de *grasa,* y 0'3 de *colesterina.* Forman también parte del plasma el *azúcar de uva, ácidos grasos, ácido úrico, urea, creatina, creatinina, xantina, hipoxantina, leucina* y á veces el *ácido fórmico, acético* y *succínico.* Las *sales* entran por un 6 á 8 por 1.000. En esta cantidad se comprenden el *cloruro de sodio* (3 á 5 por 1.000); el *fosfato de sosa* (0'2 á 0'5 por 1.000); el *carbonato de sosa* (1 á 2 por 1.000), etcétera. Así como entre las sales de los hematíes dominan los *fosfatos* y las á base de *potasa,* en el plasma preponderan las de *sosa* y los *cloruros.* Contiene además el plasma indicios de *hierro, cobre* y *manganeso.*

Los gases de la sangre son: el *oxígeno* y el *ácido carbónico.* El *oxígeno* circula por la sangre unido á la hemoglobina. El *ácido carbónico* se halla en disolución en el plasma y en combinación con los carbo-

natos alcalinos. Las proporciones relativas de estos gases son distintas en la sangre arterial y en la venosa: así el oxígeno de la arterial alcanza (en volúmenes) la cifra del 16 por 100, en tanto que en la venosa no pasa del 8 por 100. El ácido carbónico, por el contrario, llega á 32 por 100 en la venosa, y solo 27 ó 28 en la arterial.

Coagulación de la sangre. El acto de la coagulación va acompañado de fenómenos que pueden distinguirse en *macroscópicos* y *microscópicos*.

a.—Fenómenos macroscópicos. La sangre, pocos momentos después de extraída, se torna pastosa, consistente, y se notan ya en la superficie del líquido y en sus puntos de contacto con el recipiente, finas películas fibrinosas. Poco después, todo el líquido se prende como una masa gelatinosa que se enfría, englobando en su seno los hematíes, por cuya circunstancia el coágulo es de color rojo obscuro. El coágulo abarca al principio toda la masa sanguínea, pero algunas horas después comienza á retraerse; de su superficie rezuman gotas de un líquido cetrino (suero), las cuales acumulándose en cantidad, concluyen por desprenderlo de las paredes del recipiente. A las 24 horas, el coágulo, muy pequeño y retraído, flota sobre gran cantidad de un líquido amarillento y transparente.

Es frecuente la presencia, en la parte superior del coágulo, de una capa blanquecina de vario espesor (costra fogística). En esta capa la fibrina se halla casi en estado de pureza ó á lo más encierra algunos leucocitos y poquísimos hematíes. Este aislamiento de la fibrina depende de que, al ocurrir la coagulación, los hematíes, cuyo peso específico es muy superior al del plasma y leucocitos, han descendido ya algo de nivel en el líquido, tendiendo á acumularse en el fondo del recipiente. Compréndese bien que, si una sangre coagula perezosamente, ofrecerá costras blanquecinas muy gruesas, y que sucederá lo contrario con sangres ó muy ricas de fibrina ó muy rápidas en coagular. Un aumento ó disminución del peso de los hematíes originará efectos análogos.

b.—Fenómenos microscópicos. Cuando se examina al microscopio un corte delgado de coágulo sanguíneo, se nota que su trama está constituída por hebras de fibrina, entre las cuales yacen aprisionados los hematíes y leucocitos.

El mecanismo de formación de tales redes fibrinosas puede

sorprenderse al microscopio examinando una gota de sangre fresca entre dos laminillas. Cuando la capa de sangre no es demasiado delgada, lo primero que llama la atención es que los hematíes, al principio esparcidos sin orden, se acercan, adhiérense por sus caras y se disponen en columnas á la manera de pilones de monedas. Estas columnas son de dirección variable, y se anastomosan entre sí formando complicadas redes de hematíes. Tan curiosa disposición se explica por algunos, suponiendo que las caras cóncavas de los glóbulos son viscosas, y tienden naturalmente á unirse en cuanto se chocan. Ello es que esta viscosidad, si existe, no la poseen los hematíes mientras circulan por los vasos.

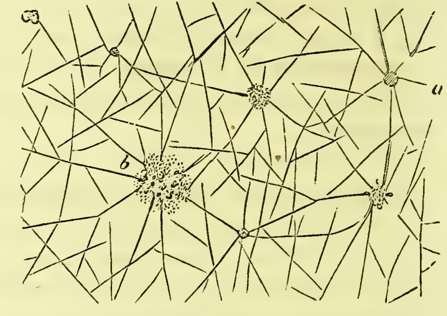


Fig. 83.—Red fibrinosa de la sangre humana coagulada entre dos laminillas de cristal.—Examen en fresco: *a*, plaqueta aislada; *b*, acúmulo de plaquetas.

Paralelamente á estos fenómenos, sobrevienen otros en las plaquetas alteradas. De los ángulos de éstas emergen tenuísimas hebras pálidas y homogéneas, que van creciendo en dirección divergente, anastomosándose entre sí y con las fibrillas emanadas de otros sistemas irradiados. Cuando los hilos parten de un acúmulo de plaquetas, muéstranse muy gruesos y numerosos. Existen hilos que convergen entre sí, sin que el punto nodal presente nada parecido á una plaqueta; y los hay también libres por ambos extremos, algo más gruesos por su medio, los cuales cruzan la dirección de los hilos fibrinosos convergentes (fig. 83).

Cuando la capa de sangre observada es muy delgada, la red fibrinosa es delicada y laxa, y aún puede ser imposible demostrarla. Pero si la capa es gruesa, existen casi siempre dos redes fibrinosas: una yacente sobre el porta-objetos y otra bajo del cubre-objetos. En la zona intermediaria se ven algunos raros hilos que ponen en relación ambos estratos.

En los vertebrados ovíparos, la coagulación de la fibrina presenta al examen micrográfico algunas particularidades interesantes.

Ya hemos expuesto en otro lugar las alteraciones que sufren las plaquetas de la rana, una vez extraída la sangre. Recordemos que de elípticas se hacen esféricas, y que su protoplasma muy pálido se eriza de expansiones sarcódicas. Este protoplasma parece fundirse en una magma común cuando las plaquetas alteradas se reunen en gran número.

Coetáneamente, los hematíes acusan cambios que inducen á pensar que la coagulación se inicia. Los situados en los alrededores de las placas se orientan, dirigiendo á éstas uno de de sus extremos; algunos pocos se estiran en bastoncito ó se plegan longitudinalmente con análoga polarización. Los hematíes que tocan á las plaquetas se transforman más enérgicamente, arrugándose y lobulándose por su lado periférico, y se echa de ver que las arrugas formadas convergen también en las plaquetas. A menudo se rompen estos hematíes al nivel de sus dobleces, y los trozos esferoidales resultantes marcan por su acúmulo y disposición el lugar ocupado por la placa.

Estos fenómenos suponen la coagulación de la fibrina; pero ¿cómo se dispone esta substancia? ¿Forma redes espesas como Ranvier afirma, ó se deposita en simples hebras no anastomosadas?

A primera vista parece sencillo decidir esta cuestión; pero es el caso que en la sangre coagulada de la rana, de las aves, etc., son invisibles los hilos fibrinosos, por lo cual éstos más bien se adivinan que se demuestran. Sin embargo, nosotros los hemos visto, aunque con cierta vaguedad, en la sangre coagulada de un urodelo, el *pleurodelo Woltii,* y es de suponer que también sean demostrables en la salamandra y el tritón.



Fig. 84.—Sangre coagulada de rana. Vese en el centro una plaqueta transformada y alrededor los hematíes orientados; algunos están plegados y fragmentados.

Hé aquí cómo nosotros comprendemos la disposición de la red. De la perifería de la plaqueta parten hilos de fibrina que divergen en todas direcciones, pero sin anastomosarse en su camino. Al nivel de su origen, los hilos, que dejan entre sí espacios muy estrechos, oprimen fuertemente los hematíes: de ahí la forma globular plegada y rota, observable cerca de las plaquetas. Los hematíes estirados lo son por ser cogidos entre dos ó más

hebras muy próximas y divergentes. A un encajonamiento parecido, bien que entre fibras radiales más separadas, es debida también la orientación general de los hematíes no deformados.

Ya hemos expuesto que en los batracios rara vez pueden distinguirse los hilos fibrinosos; pero es extremadamente probable que existan con la disposición descrita, puesto que las alteraciones globulares que se presentan en la sangre coagulada de estos animales son iguales á las ofrecidas por el pleurodelo. A mayor abundamiento, existe un fenómeno fácilmente comprobable en la rana, que demuestra perentoriamente la existencia de fibras radiadas. Si, á favor de la presión del cubre-objetos, se determinan en la preparación corrientes globulares, adviértese que los hematíes más periféricos de cada sistema irradiado son movibles en el sentido del radio, pero nó en el de la circunferencia, deteniéndose constantemente según ciertas líneas invisibles divergentes, donde se plegan y arrollan como lo verificaría un lienzo al chocar contra una cuerda.

Puédese, pues, afirmar que la fibrina de la sangre de la rana y demás vertebrados inferiores coagula en hebras, diferenciándose de las fibrillas de la propia materia en los mamíferos, por ofrecer pocas ó ninguna anastomosis y por poseer un índice de refracción idéntico al del plasma.

La iniciación de la coagulación fibrinosa en torno de las plaquetas y sólo cuando éstas comienzan á alterarse, prueba que existe relación causal entre ambos fenómenos. Es probable que las gotas hialinas que rezuman del protoplasma de las plaquetas, ó algún principio soluble emitido por éstas durante sus metamórfosis, obre sobre los albuminoides de la sangre á guisa de fermento, determinando la coagulación de la fibrina.

La producción de este fermento pudiera no ser, como algunos aseguran, un fenómeno de muerte de las placas, sino producto de secreción activa, por estímulos de un medio alterado en su constitución. La activa contractilidad amiboide de las plaquetas en los vertebrados inferiores, contractilidad que á veces hemos llegado á sorprender hasta después de efectuada la coagulación, prestan cierta verosimilitud á esta opinión. Además, en las sangres que no coagulan (sangre muy diluída por el licor sódico, sangre en capa muy delgada, sangre mezclada con gran cantidad de linfa como la que se extrae por sección de los dedos de una pata de rana, etc.), las plaquetas se deforman durante horas á la manera de los leucocitos, siendo imposible diferenciarlas en este estado de la variedad de gló-

bulos blancos, uninucleares y pequeños. Si estos movimientos amiboides se paralizan en la sangre coagulada, esto consiste probablemente en el obstáculo que oponen los espesos hilos de fibrina que rodean la placa.

A la verdad, esta hipótesis no es igualmente sostenible respecto de las plaquetas de los mamíferos. La ausencia de núcleo y de retículo, hacen por lo menos dudosa su vitalidad.

Opiniones sobre las causas de la coagulación de la sangre.— La dificultad de comprender cómo la fibrina siendo coagulable á la temperatura del cuerpo no se coagula mientras circula por los vasos, ha suscitado en todo tiempo multitud de teorías más ó menos ingeniosas, pero ninguna completamente satisfactoria.

La opinión de que la fibrina dimana de los hematíes por alteración de éstos; la de Richardson, quien consideraba esta substancia disuelta en el plasma merced á cierta cantidad de amoníaco, el cual, evaporado, aquélla se precipitaba; la que suponía la fibrina preexistente en la sangre, pasando de líquida á sólida, por simple cambio isomérico, están en la actualidad justamente abandonadas, pues todas ellas descansan en observaciones incompletas ó en hechos erróneos.

Teoría de Denis. Ya Robín y Verdeil sospecharon (*Traité de chimie anatomique,* 1851) que la fibrina no preexistía en la sangre en estado de solución, pero sólo Denis de Commercy (*Memoire sur le sang consideré quand il est fluide et pendaut qu'il se coagule,* París, 1859), apoyó esta presunción sobre pruebas y experiencias rigurosas. Afirma Denis, que la fibrina es producto del desdoblamiento de una materia llamada *plasmina,* contenida en la sangre en proporción de un 25 por 100. Esta substancia albuminoide es precipitable por el cloruro sódico. En el acto de la coagulación, la plasmina se descompone en dos principios: *fibrina concreta* ó sea la fibrina ordinaria, en proporción de un 3 por 1000; y fibrina disuelta en la de un 22 por 1000. Esta última queda disuelta en el plasma, de donde es precipitable por el sulfato de magnesia.

La sangre incoagulable de las venas suprahepáticas, así como la menstrual, etc., contienen la misma proporción de plasmina que la ordinaria; pero por causas ignoradas, el desdoblamiento no tiene lugar espontáneamente. Mas si se precipita la plasmina por el cloruro sódico, y se redisuelve en agua el precipitado, el desdoblamiento no tarda en sobrevenir, depositándose la fibrina concreta en la cantidad normal. Cuando la sangre parece contener más fibrina (costra flogística), no existe aumento en la proporción de

plasmina, sino en la de fibrina concreta, disminuyendo en este caso la cantidad de fibrina disuelta.

Teoría de Schmidt. Los trabajos de este autor confirman algunos de los resultados de las investigaciones de Denis; pero los contrarían en lo referente á la naturaleza del acto primordial de la coagulación, que para Schmidt, en vez de una descomposición, consiste precisamente en una combinación de dos principios preexistentes. Afirma este fisiólogo *(Die Lehre der fermentativer Gerinnungsercheinungen in den eiveissartigen thierischen Körperflussigkeiten. Dorpart. 1876)* (1) que el plasma se compone de los siguientes principios albuminoides: 1.º, *albuminosa ó peptona* (2 á 3 por 1.000); 2.º *albúmina* ó *serumalbúmina*, substancia coagulable por el calor y los ácidos (53 por 1.000); 3.º, substancia *fibrinoplástica* (21 por 1.000); 4.º, materia *fibrinógena* (3 á 4 por 1.000). En el acto de la coagulación, toda la fibrinógena, mas una pequeña parte de la fibrinoplástica, se combinan para producir el coágulo, quedando la mayor parte de la fibrinoplástica disuelta en el suero, del cual es precipitable por una corriente de ácido carbónico. Esta fibrinoplástica representa la fibrina disuelta de Denis.

La unión de ambas materias albuminoides no tiene lugar por simple contacto, sino que es precisa la acción de un tercer factor, de un fermento procedente de los leucocitos, los cuales lo sueltan precisamente al destruirse durante las alteraciones sufridas por la sangre extravasada. Que los glóbulos blancos son los autores del fermento, intenta probarlo Schmidt, afirmando que todas las causas que impiden la destrucción de aquéllos, así como los procederes que tienen por fin separarlos de la sangre, impiden ó retardan la coagulación. Tales son las bajas temperaturas, las soluciones concentradas de sulfato de magnesia, la filtración en frío de la sangre que aparta los leucocitos y la acción de la pancreatina que los disuelve.

Ciertos líquidos contienen solamente la materia fibrinógena (líquido de hidrocele, serosidad pericardíaca, etc.), y no son espontáneamente coagulables; pero si se les añade el fermento y la fibrinoplástica (que Schmidt ha llegado á aislar) coagulan como la misma sangre.

La sangre viva circulante encierra la fibrinógena y fibrinoplástica, mas no el fermento, y por eso no coagula; á estos líquidos llama Schmidt *proplásticos;* reservando la denominación de *plásticos* para aquellos que contienen todos los factores de la coagulación, por ejemplo, la sangre extraída de los vasos donde ya el fermento se ha originado por destrucción de leucocitos.

La hemoglobina, la fibrina concreta, el negro animal, una cierta cantidad

(1) Véanse sus otros trabajos anteriores: *Ueber der Faserstoff und die Ursachen seiner Gerinnung, 1861.* (Archiv. für Physiologie von Reichert und Dubois Reymond). *Neue Untersuchungen ueber die Faserstoffgerinnung* (Plüger's Archiv. Band VI, 1872), etc.

de sal (0,7 á 0,8 por 100), son condiciones que favorecen la coagulación, aunque por sí no la determinan.

A esta teoría pueden hacerse graves objeciones. Bastará indicar que los leucocitos, lejos de destruirse en la sangre recién extraída, continúan viviendo por muchas horas sin dar señales de secreción ninguna, y que los coágulos fibrinosos se inician, no en torno de los leucocitos, sino alrededor de las plaquetas, como ya demostró Hayem primero y Bizzozero después. Evidentemente, Schmidt no conoció la existencia de las plaquetas; de otro modo, es indudable que hubiera otorgado á éstas la misma función que atribuye á los leucocitos.

Opinión de Hayem. (*Compt. rend. de l'Acad. d. Scien.* Dec. 1877 y 3 Julliet 1882.—*Union médicale,* 1882, etc.)—El fermento que Schmidt atribuye á los leucocitos, Hayem lo considera simple producto de la descomposición de las plaquetas, es decir, de sus hematoblastos. Son éstos unos corpúsculos homogéneos, hialinos, bicóncavos, ligeramente impregnados de hemoglobina, de 1 á 3 μ de diámetro y sumamente vulnerables.

Tan pronto como se extrae la sangre, ya están profundamente alterados. Estos cambios conducen á su descomposición en dos materias: una insoluble que constituye los puntos nodales de la red fibrinosa; y otra soluble que se mezcla al plasma, siendo quizás el fermento de la coagulación. Todos los agentes que conservan los hematoblastos retardan ó impiden la coagulación, siendo aquéllos precisamente los mismos que Schmidt consideraba conservadores ó aisladores de los leucocitos. Si la sangre no se coagula dentro de los vasos normales, esto depende de que los hematoblastos conservan su vitalidad. Si por cualquiera causa (aspereza de la pared vascular, paralización del círculo, extracción de la sangre, presencia de cuerpos extraños), se produce la descomposición del hematoblasto, el plasma coagula, siquiera no contenga un solo leucocito. No es precisa, según Hayem, la presencia de los hematoblastos para que el retículo fibrinoso se forme; bastan los productos de descomposición de aquéllos. En este caso el retículo carece de corpúsculos en los puntos nodales, etc., etc.

Opinión de Bizzozero. (*Sur un nouvel élément du sang et son importance dans la thrombose et la coagulation.—Les petites plaques du sang et la coagulation.* Arch. ital. de Biol. T. I., p. 1, y p. 276, 1882).—Este autor ha confirmado las experiencias de Hayem, con relación al papel coagulante de los hematoblastos. En apoyo de este modo de ver, ha hecho notar que en la trombosis experimental las plaquetas se acumulan formando un nódulo granuloso, en torno del cual se deposita la fibrina. Además: según este autor, cuando se ponen en contacto con un líquido proplástico hilos precisamente agitados en sangre fresca y recubiertos de plaquetas, la coagulación se determina inmediatamente. Los leucocitos y hematíes, así como trozos de tejidos

(bazo, ganglios linfáticos, etc.), mezclados al mismo líquido, no producen la coagulación ó lo verifican escasa é imperfectamente.

Por lo demás, las plaquetas de Bizzozero corresponden á los hematoblastos de Hayem, por lo menos en cuanto á los rasgos más culminantes de estos elementos; solo que aquel autor rechaza por inexacta la denominación de *hematoblasto*, que presupone una función no demostrada (la formación de los glóbulos rojos), sustituyéndola por la de plaquetas *(piastrine)* que tiene la ventaja de recordar la forma de estos corpúsculos, sin prejuzgar nada respecto de sus funciones. Aparte de esta cuestión de nombre, la descripción que da Bizzozero de las plaquetas es más exacta que la de Hayem, cosa natural si tenemos en cuenta que el autor italiano las ha estudiado en la sangre circulante de mamíferos cloralizados, mientras que el fisiólogo francés las ha observado solamente en la sangre extraída, y por tanto en vías de alteración. A esta causa deben referirse dos errores cometidos por Hayem acerca de las propiedades de sus hematoblastos; es el uno la afirmación de que estos corpúsculos están coloreados por la hemoglobina, siendo así que son absolutamente incoloros, como lo hemos comprobado muchas veces en la sangre circulante del conejo y del cabial, auxiliándonos del iluminador Abbe sin diafragma; y es la otra forma bicóncava con que los presenta, en vez de la lenticular ó aplanada que les es peculiar (1).

La opinión de Hamarsten ha sido ya expuesta en la Estequiología, al tratar de la fibrina.

Origen de los elementos sanguíneos: 1.ª Génesis de los hematíes. Es preciso distinguir aquí dos cuestiones: el origen de los hematíes durante la época fetal, y la renovación de los glóbulos en el adulto.

a.—*Formación de los hematíes en el embrión.* La sangre y los vasos se forman en el embrión de pollo, de las 20 á las 30 horas de incubación, apareciendo primeramente en el área vascular, y por consiguiente, en una formación mesodérmica. El proceso se inicia

(1) No faltan autores que niegan la acción coagulante de las plaquetas. Schimmelbusch *(Die Blutplälchen und die Blutgerinnung.* Fortsch. d. Med. 1885), después de comprobar la existencia y alterabilidad de las plaquetas, concluye que nada tienen que ver con la coagulación, fenómeno de pura cristalización de la fibrina. Lacker *(Die ersten Gerinnungerscheinungen des Saügethierblutes untem dem Mikroscop.* Sitzungsb. d. Kais. Akad. de Wiss. z. Wien. B. XC) afirma que la fibrina coagulada entre dos laminillas no se dispone en red, sino en membrana, cada uno de cuyos pliegues semeja un hilo fibrinoso. Los elementos figurados adhieren á esta membrana, pero no intervienen en el acto de la coagulación.

por la construcción de una red de cordones irregulares, con estrecheces y ensanchamientos *(islotes sanguíneos* de Wolff). Al principio, estos cordones son macizos y sus células no exhiben marcada diferenciación. Más tarde, los elementos periféricos se ensanchan y se unen para formar el endotelio vascular; en tanto que los centrales pierden sus gránulos, cárganse de hemoglobina, segregan un plasma intersticial y vienen á ser hematíes embrionarios (Kölliker).

Ranvier describe de muy diversa manera el origen de los primeros hematíes. Cada uno de aquellos islotes sanguíneos ó puntos de confluencia de la red está constituído, no de muchos corpúsculos yuxtapuestos, sino de una sola gruesa y ramificada célula *vasoformativa,* la cual se anastomosa, por apéndices protoplasmáticos, con las vecinas. Formada esta red de protoplasma macizo, multiplícanse los núcleos, constituyendo acúmulos nucleares voluminosos en las confluencias de la red; luego el protoplasma se ahueca, canalizándose sus apéndices, y las cavidades que resultan se llenan de un líquido plasmático. Los núcleos multiplicados se diferencian en dos especies: unos, los más, quedan dentro de la cavidad celular y se transforman en hematíes nucleados; otros, menos numerosos, se aplican á la pared vascular rudimentaria y se convierten en núcleos endoteliales. Más adelante, se completa la organización de la pared por individualización del protoplasma situado en torno de los núcleos.

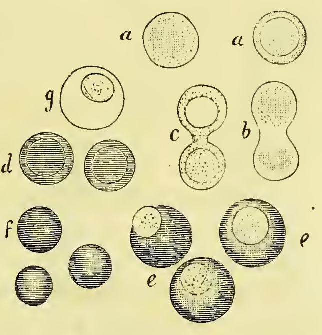


FIG. 85.—Glóbulos rojos de la sangre de un feto de ratón; *a,* células semihialinas apenas teñidas por la hemoglobina; *c* y *b,* estas mismas células en vías de escisión; *d,* hematíes con núcleo voluminoso; *e* y *e,* hematíes mayores con núcleo más pequeño y excéntrico; *f,* glóbulos rojos sin núcleo. Ob. E. Oc. 5. Zeiss.

Los hematíes embrionarios son mayores que los normales y poseen núcleo en todas las especies de vertebrados. En la sangre de los mamíferos piérdese el núcleo en los últimos meses de la vida embrionaria; pero en las aves, reptiles, peces y batracios, se conserva durante toda la vida. Durante la época embrionaria, los gló-

bulos rojos se multiplican por escisión, como ya demostró Remack. Añadamos que, según nuestras observaciones, esta división es frecuentemente kariokinética y recae solamente en los hematíes más pequeños y pálidos.

Cuando los órganos hematopoyéticos están en aptitud de funcionar (bazo, médula ósea), las formas jóvenes y los elementos en segmentación desaparecen de la sangre para refugiarse en aquéllos. El núcleo de los hematíes se desprende á favor de un fenómeno de expulsión, como hemos tenido ocasión de comprobar en fetos de ratón, donde además aparecen todas las formas de tránsito entre los hematíes con núcleo excéntrico y los glóbulos sin él.

Según Ranvier, los hematíes pueden también, después del nacimiento, engendrarse en el interior de células especiales (1). Tal sucede en el epiplon mayor del conejo recién nacido (de 10 á 20 días). En ciertos parajes de este repliegue *(manchas lechosas)* se encuentran, al lado de capilares con puntas de crecimiento, ciertas células (que Ranvier denomina *vasoformativas),* de forma cilíndrica ó irregular, con extremidades puntiagudas, á menudo ramificadas y en vías de crecimiento. En el espesor de tales células se generan los hematíes del propio modo que las gotas de grasa en los corpúsculos adiposos. Estos hematíes son bicóncavos y poseen el tamaño y todas las propiedades físico-químicas de los glóbulos adultos circulantes. Finalmente, las puntas de las células vasoformativas crecen hasta juntarse con las redes capilares permeables, entrando sus glóbulos en la circulación general. (Véase, para más detalles sobre este punto, el desarrollo del tejido vascular.)

Nosotros hemos estudiado las redes vasoformativas del conejo de 10, 15 y 30 días, y no podemos conformarnos con la interpretación de Ranvier. Es cierto que se ven en el epiplon de aquel animal células cilíndricas cerradas y completamente separadas de la red capilar, y es evidente también que encierran verdaderos hematíes; pero esto no prueba que los glóbulos se hayan engendrado dentro del protoplasma, como una inclusión cualquiera. A nuestro modo de ver, estas singularísimas masas cilindroides son simplemente trozos de redes capilares aislados por atrofia y reabsorción de los puen-

(1) *Traité tecnique d'histologie*, p. 625 y siguientes.

tes con que se enlazaban al resto de la ramificación vascular. Este proceso, análogo en el fondo al que tiene lugar en la vida embrionaria con importantes formaciones vasculares (desaparición de ciertos arcos aórticos, de la cápsula vascular del cristalino, del conducto de Cuvier izquierdo, de parte de las venas umbicales, etc.), se explica en este caso bien, recordando la pobreza vascular y las anchas perforaciones que caracterizan el epiplon adulto (el epiplon del conejo recién nacido es riquísimo en capilares y no está perforado).

Hé aquí algunas observaciones que apoyan este modo de ver: 1.ª Dentro de las células vasoformativas absolutamente aisladas (véase la fig. 86) hemos hallado muchísimas veces, no solo gran número de hematíes, sino que también leucocitos y plaquetas absolutamente iguales como tamaño, forma y propiedades á las circulantes por la sangre. Suponer que una célula sea capaz de engendrar en su interior hematíes, puede hasta cierto punto admitirse, puesto que estos corpúsculos no son verdaderas células; pero afirmar que un protoplasma cualquiera posee la virtud de producir simultáneamente leucocitos perfectos con núcleo vejetante, hematíes discoides, plaquetas y células endoteliales, es decir, todos los factores de los vasos y de la sangre, nos parece que es ya traspasar los términos de la verosimilitud, creando sin necesidad un modo de formación que pugna con todas las leyes celulogenéticas conocidas. 2.ª Parecía natural que los hematíes creados en el seno de estos protoplasmas tuviesen forma esferoidal y encerrasen un núcleo á la manera de los glóbulos embrionarios; y sin embargo, los hematíes que tales células

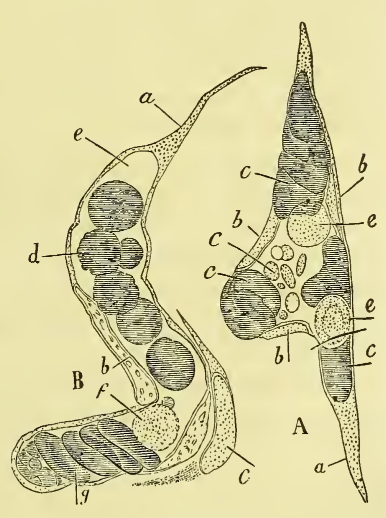


Fig. 86 —A, célula vasoformativa del epiplon mayor de un conejo de 12 días, examinada en fresco; *a*, punta sólida de protoplasma, *b*, núcleos de la pared vascular; *c*, plaquetas y hematíes; *e*, glóbulos blancos.

B, otra célula examinada en las mismas condiciones: *a*, punta protoplasmática; *b*, núcleo de la pared; *c*, célula conjuntiva superpuesta á la pared; *d*, hematíes discoides vistos de frente; *g*, otros vistos de perfil; *f*, leucocitos.

encierran son discoideos, sin núcleo, con el mismo color, forma y composición química que los adultos. Alguna vez se los encuentra fragmentados, pero es sólo en las células fuertemente retraídas, y, de todos modos, esta fragmentación ocurre también en los hematíes normales. 3.ª Los hematíes de las células vasoformativas yacen frecuentemente apilados en columnas apretadas. A veces forman, por su acúmulo, una dilatación vascular considerable (fig. 86, A), y están tan apretados, que apenas pueden distinguirse sus contornos. Estas disposiciones, que son reproducción fiel de las que ofrecen los glóbulos en los capilares normales cuando el círculo se paraliza, son difíciles de comprender, supuesta la interpretación de Ranvier. 4.ª La textura de las células vasoformativas es complejísima y análoga á la de los capilares perfectos. 5.ª Entre las células vasoformativas aisladas y las redes permeables se notan siempre rastros de células alargadas y cordones sólidos sin hematíes, que, cuando se examinan á débiles aumentos, parecen continuar la red capilar general. Dichos cordones son, á nuestro juício, vestigios de capilares suprimidos. Entre esta fase y un principio de estrangulación capilar que anuncia el aislamiento de un trozo de red, hállanse todas las gradaciones intermedias (1).

b.—*Formación de los hematíes durante la vida extrauterina.* En la sangre del adulto se forman los hematíes por un proceder análogo al que tiene lugar en la sangre embrionaria, es decir, por transformación de ciertas células hialinas en rojas nucleadas y segmentación de las mismas; pero este proceso, que en el embrión se realiza en la sangre circulante, sólo tiene lugar en el adulto en el seno de la médula ósea y del bazo.

Hematopoyesis en la médula ósea.—1.ª *Células rojas.* Cuando se observan, previa disociación en el licor sódico, los elementos de la médula ósea de mamífero (conejillo de Indias, conejo, gato, etc.), se advierten, entre los meduloceles y mieloplaxias, ciertos curiosos glóbulos de forma perfectamente esférica, de tamaño algo mayor que el de los hematíes (de 6 á 11 μ), de color amarillo homogéneo, de contorno correcto, de propiedades físicas y químicas idénticas á las que poseen los hematíes adultos, de los que solo se distinguen por alojar un núcleo esférico, casi siempre escéntrico. El parecido de estas células (cuyo descubrimiento se debe á Neuman) es tan grande con los hematíes embrionarios ó nucleados, que la distinción es imposible.

(1) Para más detalles, véase nuestra Memoria *Sobre la significación de las célnlas vasoformativas.*

El núcleo es perfectamente colorable por los reactivos de la cromatina: el verde de metilo, violeta de dalia, etc., revelan en él una cubierta cromática y redes interiores de esta substancia. Esta textura es mucho más apreciable en los elementos correspondientes de los vertebrados ovíparos.

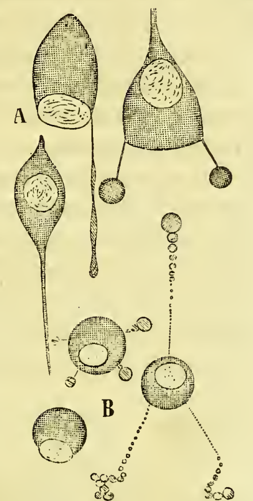


Fig. 87.—A, hematíes jóvenes de la sangre del pleurodelo Waltii, alterados por presión y examinados en fresco.—B, alteraciones de las células rojas de Neuman de la médula ósea de la rana, examinadas en un líquido indiferente (sal al o'75 por 100).

El protoplasma, absolutamente hialino, blando y muy alterable, se deja estirar fácilmente en hebras y en bolas que se disponen á menudo en largos rosarios (fig. 87).

Además de estos corpúsculos rojos, hállanse otros más pequeños (de 5 á 7 μ) que constan de un núcleo voluminoso, esférico y central, y de delgada película de una materia absolutamente hialina y apenas teñida por la hemoglobina. A veces, se advierten en torno del núcleo algunas pocas granulaciones. Estos glóbulos pequeños son asiento frecuente de partición, ya directa, ya kariokinética. Esta última circunstancia, mas la existencia de formas de transición entre ellos y los elementos mayores y más ricos en hemoglobina, con la ausencia de fases segmentatorias en los últimos, dan á entender que los pequeños son simplemente las formas jóvenes, proliferantes de los grandes.

2.—*Células semihialinas.* Hay en la médula otra categoría de elementos cuyos caracteres permiten aproximarlos á las células rojas. Son unos corpúsculos esféricos, de contorno limpio y redondo, de tamaño variable (oscila en el conejo entre 7 y 15 μ), de protoplasma homogéneo, aunque no tan hialino como el de los elementos anteriormente descritos, y provisto de un núcleo esférico, voluminoso, que llena casi todo el cuerpo celular. Este núcleo es invisible en estado fresco, pero es fácilmente revelable por los ácidos y las materias que tiñen la cromatina, las cuales evidencian también en él señales de kariokinesis.

Entre las fases de este proceso de escisión, es frecuente la *figura estelar madre, placa ecuatorial* y *estrellas hijas*. En todas ellas, los hilos de nucleina yacen, en parte sueltos, en parte adheridos, circunstancia por la cual estas figuras no presentan nunca la corrección de las de la rana y salamandra. Aparte de esto, es de notar que los fenómenos de partición son más frecuentes en las células pequeñas que en las grandes.

Entre estas células semihialinas, no teñidas, y las anteriormente descritas, se advierten todas las gradaciones de corrección de contorno, hialinidad, coloración, etc.

3.—*Núcleos independientes*. Al lado de las mencionadas formas se ven multitud de núcleos solo revestidos de tenuísima capa hialina ó semihialina; su diámetro es de 3 á 5 μ, y su textura análoga á la de los núcleos de las células rojas.

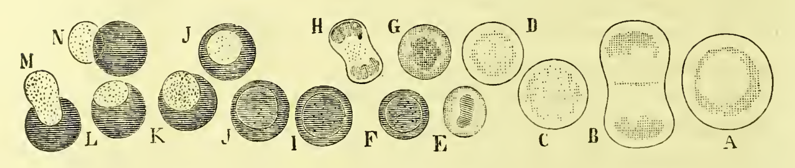


Fig. 88.—Células hemoglóbicas de la médula ósea del conejillo de Indias joven (examen en el licor sódico).—A, célula semihialina gruesa; B, una en partición kariokinética; C y D, otras más pequeñas con núcleo grueso; E, F, G, H, células rojas pequeñas; E, G, H, en kariokinesis; I, J, células rojas mayores con núcleo grueso; K, L, con núcleo excéntrico; M, N, con núcleo semiexpulsado.

Los leucocitos, meduloceles, etc., se distinguen perfectamente de todas las formas descritas, por su aspecto ásperamente granuloso, por su contorno desigual, por encerrar un núcleo mamelonado ó vegetante en unión de gran cantidad de inclusiones y por gozar de contractilidad amiboide.

La talla gigante, el núcleo voluminoso y ramificado, un protoplasma abundante y francamente reticulado, caracteres propios de las mieloplaxias, hacen imposible toda confusión entre éstas y los glóbulos de Neuman.

Ninguna transición enlaza los glóbulos rojos nucleados con los elementos medulares (meduloceles, leucocitos, etc.), por lo cual puede afirmarse que no existe entre ellos parentesco, innecesario

además como hipótesis, desde que se han descubierto en los elementos de Neuman estados kariokinéticos.

Con relación á la filiación de las células hialinas medulares, y, sobre todo, respecto del mecanismo por cuya virtud la célula roja de Neuman se transforma en hematíe normal, cada hematólogo profesa una opinión particular fundada en hechos no siempre legítimamente interpretados.

Nosotros, después de prolijas observaciones, cuyos pormenores no pueden tener aquí cabida, creemos probable la siguiente filiación: 1.ª Las células que hemos llamado semihialinas engendran kariokinéticamente otras de la propia naturaleza, pero más pequeñas y con escasa cantidad de protoplasma. 2.ª Las semihialinas pequeñas pasan á ser, por gradaciones sucesivas, hialinizando su protoplasma, adquiriendo contorno riguroso y ligera coloración hemoglóbica, células rojas nucleadas de la variedad enana. 3.ª Estas células aumentan en protoplasma y hemoglobina; su núcleo, relativamente pequeño, se hace más excéntrico y homogéneo, resultando las células grandes de Neuman iguales á los hematíes embrionarios. 4.ª Por fin, la excentricidad del núcleo se exagera; llega un instante en que ocupa una posición tangencial, y se expulsa: la célula, exclusivamente formada por hemoglobina, es esférica y su volumen y color son análogos á los del hematíe normal; fáltale solamente entrar en la circulación general y hacerse discoidea. 5.ª El núcleo puesto en libertad, forma aquellos corpúsculos nucleares, aislados, tan abundantes en el tejido medular. La suerte que cabe á estos corpúsculos es desconocida; quizás se rodean nuevamente de hemoglobina y vuelven á ser hematíes nucleados, en cuyo caso habría dos procesos de formación globular: uno á expensas de los corpúsculos rojos y otro á cargo de los semihialinos, que irían transformándose en rojos.

Hematopoyesis en el bazo. El barro esplénico del conejo joven, el del ratón, el del gato, áun en la época adulta, contienen también los elementos descritos; es decir, células semihialinas en kariokinesis, elementos nucleados pequeños y elementos hemoglóbicos grandes. La sangre embrionaria del ratón nos ha ofrecido también igual composición. Así, que nosotros pensamos que en la sangre embrionaria, en el bazo y en la médula ósea, el proceso hematopoyético se

realiza del propio modo. Es de notar que, fuera del estado embrionario, cuanto más edad tiene el animal, mayor participación tiene en la función la médula ósea y menor el bazo.

La génesis globular en los vertebrados ovíparos, tiene lugar probablemente de igual manera que en los mamíferos, faltando solamente la fase final de la expulsión del núcleo. Por lo demás, en la médula ósea de las aves, reptiles y batracios hemos podido comprobar la existencia de los glóbulos rojos nucleados y la de todos sus afines. En la rana, por ejemplo, se encuentran: 1.°, células semihialinas de tamaño vario, de núcleo invisible en estado fresco y con apariencias kariokinéticas; 2.°, elementos enanos de escaso cuerpo celular apenas teñido por la hemoglobina, con núcleo relativamente voluminoso y, á menudo, en división ya directa, ya indirecta; 3.°, células mucho más grandes, esféricas, ricas de protoplasma hemoglóbico y sumamente alterables. Entre éstas y los hematíes normales, hállanse en la sangre circulante todas las fases intermedias. Para ser completos, añadamos aún la existencia de unos elementos esferoidales, de núcleo reticulado, muy claro en estado fresco, y notables por la absoluta palidez, hialinidad y casi invisibilidad de su protoplasma. Tales elementos, que abundan mucho en la sangre circulante, y que también se los halla en la embrionaria, médula y bazo de los mamíferos, parecen ser simplemente hematíes jóvenes que han perdido su hemoglobina.

Opiniones sobre el origen de los glóbulos rojos en el adulto. —1. *Opinión de Hayem.* Este autor *(Sur l'évolution des globules rouges dans le sang des vertebrés ovipares.* Comp. rend. de l'Ac. de Scien. Nov. 1877 y *Sur l'évolution des globules rouges dans le sang des animaux supérieurs.* Comp. ren. Dec. 1877) propone una nueva hipótesis. Ya hemos expuesto en otra ocasión que los hematoblastos (plaquetas) son para Hayem corpúsculos bicóncavos ligeramente teñidos por la hemoglobina. Tales propiedades, análogas á la de los hematíes, han sugerido á este hematólogo la hipótesis de que proceden de las plaquetas, pasando por gradaciones de forma que se encontrarían en la sangre normal, pero especialmente en la de los anémicos. Después de copiosas sangrías, y al remate de las fiebres y afecciones agudas en que la sangre se repara rápidamente, el número de hematoblastos aumenta considerablemente hasta quintuplicar la cifra normal *(De la crise hématique dans la fièvre intermittente.* Arch. de Phys. nor. et path. n.° 6, 1883).

En cuanto á los hematíes nucleados de la médula ósea y á los que aparecen en la sangre de los anémicos, á pesar de que este autor reconoce sus analogías con los embrionarios, ninguna significación les concede, afirmando que se les halla más bien en las anemias graves sin tendencia á la reparación sanguínea que en las leves y transitorias *(Des globules rouges á noyau dans l'adulte.* Arch. de Phys. n.º 3, 1883).

Según este autor, también los hematíes de los vertebrados ovíparos se engendran por metamórfosis de las plaquetas nucleadas. Éstas, á consecuencia de hemorragias, aumentan de tamaño, se tiñen por la hemoglobina y constituyen, primero hematíes enanos, con núcleos voluminosos, luego glóbulos normales.

El parecer de Hayem tropieza con las siguientes dificultades: 1.ª Las plaquetas de los mamíferos carecen de forma bicóncava y materia colorante, no viéndose jamás formas de transición entre estos corpúsculos y los hematíes. 2.ª La sangre en reparación, así como la embrionaria, no encierran mayor cantidad de plaquetas, sino glóbulos rojos con núcleo. 3.ª Es opinión general que el hematíe tiene la significación de una célula que perdió su núcleo al acabar su evolución; pero si admitimos que procede del hematoblasto (corpúsculo sin núcleo y sin vitalidad bien demostrada) pierde, *ipso facto,* su categoría celular. Hayem, sospechando una tal objeción, ha hecho considerables esfuerzos por descubrir el núcleo de los hematoblastos, y aun pretende en un trabajo moderno haberlo demostrado *(Contribution à l'étude de la structure des hématoblastes.* Gaz. med., p. 479, 1881), pero es indudable que tal órgano no existe, pues de existir, los reactivos de la cromatina, unidos á los grandes aumentos, lo evidenciarían.

2.—*Opinión de que la médula es el órgano hematopoyético por excelencia.* Neuman fué el primero *(Ueber die Bedeutung des Knochenmarkes für die Blutbildung. Centralblat.* oct. 1868, p. 689) en describir las células rojas nucleadas de la médula, las cuales estimó como intermedias entre los hematíes y las células blancas de la sangre. Casi coetáneamente, Bizzozero anunciaba el mismo descubrimiento con igual interpretación *(Sulla funcione ematopoetica del midollo delle ossa.* Gazetta med. ital., 1868). Rindfleisch (Archiv. für mik. Anat. 1880, p. 22), y Malassez *(Sur l'origine et la formation des globules rouges dans la moelle des os.* Travaux de l'Année 1882, Lab. d'hist. du Collège de France) confirmaron los resultados principales de las investigaciones de Neuman y Bizzozero, estimando también los glóbulos rojos nucleados como las formas jóvenes de los hematíes adultos. Las discrepancias que entre sí ofrecen estos histólogos se refieren á la apreciación de dos puntos secundarios: origen de las células rojas y mecanismo de la desaparición del núcleo para convertirse en hematíes adultos.

Sobre la desaparición nuclear existen tres hipótesis:

1.ª El núcleo se fragmenta dentro del cuerpo celular, confundiéndose con la materia hemoglóbica (*Neuman*: Archiv. d. Heilk. 1869, p. 79, y *Bizzozero:* Centralblatt. 1868, p. 885). La ausencia de formas de transición en este proceso hacen insostenible esta opinión, sobre todo después que se conocen otras más en armonía con los hechos.

2.ª El núcleo se hace excéntrico, luego tangencial, por último salta del cuerpo celular, quedando éste transformado en hematíe casi perfecto. (*Rindfleisch*. loc. cit.) El hallazgo de todas las formas de tránsito entre un principio de excentrización nuclear y la emergencia total del núcleo, prestan gran verosimilitud á esta opinión. No obstante, algunos autores han objetado (*Obrastzow*. Archiv. Virch., 1885, y *Malassez* loc. cit.) que la exteriorización del núcleo es un puro fenómeno cadavérico. Este último autor asegura que no se presenta tal disposición, si como medio fijador de los glóbulos se usa el ácido ósmico y la semidesecación. Pero es imposible pensar que el licor sódico y la preparación en el propio plasma de la médula, que consienten la conservación de la contractilidad amiboide de los meduloceles y leucocitos, sean más dañosos que el ácido ósmico que los mata y la semidesecación que los retrae.

3.ª El núcleo se pierde, no por una suerte de eyección celular, sino por gemmación de la hemoglobina, la cual, pediculándose primero y separándose después, forma un hematíe perfecto. El núcleo queda envuelto en cierta cantidad de hemoglobina y puede llegar á ser nuevamente, aumentando su protoplasma hemoglóbico, una célula roja. En el fondo, esta opinión de Malassez es igual á la de Rindfleisch, y se funda, á mi ver, en el mismo hecho de observación, la excentricidad del núcleo; solo que, quizás la semidesecación y acción del osmio, que Malassez ha empleado en el estudio del proceso, produzcan en los elementos susodichos, alteraciones que este autor traduce como disposiciones normales.

Respecto del segundo punto, origen de las células hemoglóbicas, la cuestión se ha simplificado mucho desde que se han demostrado fenómenos de división en los elementos de Neuman.

1.ª La más probable de las hipótesis es la de Bizzozero y Torre, quienes consideran las células rojas procedentes de otras anteriores por división indirecta (*Sulla produzione dei globuli rossi nelle varie classi di vertebarati*. Arch. per. l. Scien. med., vol. VII, p. 24, 1883), proceso que han confirmado estos autores, tanto en los mamíferos, como en las aves y batracios. Los recientes trabajos de Loewit, de Doenys, de van der Sfrichf, de Hovell, &, son también favorables á este parecer.

2.ª Malassez, sin negar la proliferación de los elementos de Neuman, afirma que pueden derivar también de unos corpúsculos pálidos, con poca ó ninguna hemoglobina, de núcleo difuso que él designa *protematablastos*.

Estos corpúsculos corresponden probablemente á nuestras células *semihialinas*, las cuales, durante el período kariokinético, ofrecen en fresco un aspecto nuclear infiltrado, que Malassez no ha sabido interpretar legítimamente, quizás por la ignorancia de la kariokinesis, ó de los medios de evidenciarla.

3.ª Foa y Salvioli (*Archivio per le Scienze med.*, vol. IX) creen que las células rojas descienden de unos elementos gigantes de núcleo ramificado ó vegetante, análogas á las descritas por Kölliker en el hígado y bazo embrionarios. De la periferia de estos corpúsculos brotan yemas nucleares, las cuales, después de rodearse de cierta cantidad de materia hialina, se hacen independientes.

4.ª Por fin, ciertos histólogos (Neuman, Rindfleisch, etc.), admiten, bien que con ciertas reservas, la vieja opinión de que los hematíes nucleados de la médula dimanan de los leucocitos de la sangre.

3.—*Opiniones recientes de Loewit, Bizzozero*, &. En estos últimos años, Loewit ha publicado una serie de trabajos sobre la hematogenesis, que pueden condensarse en las siguientes proposiciones.

La médula del hueso, el bazo y los gánglios linfáticos contienen dos especies celulares: los *eritroblastos* encargados de formar los hematíes, y los *leucoblastos* que engendran los leucocitos.

Los *eritroblastos* son corpúsculos esféricos sin rastro de hemoglobina que corresponden, poco más ó menos, á nuestras *células semihialinas;* poseen un núcleo con armazón cromático flojo y se dividen por mitosis ó kariokinesis, engendrando elementos hijos susceptibles de adquirir hemoglobina y convertirse en hematíes perfectos. El núcleo desaparecería por disolución.

Los *leucoblastos* son también elementos uninucleados, de los cuales, por una serie de transformaciones, derivan todas las especies de leucocitos (primero los mononucleados, después los multinucleados, etc.) La división tiene lugar constantemente por segmentación directa, distintamente de la de los eritroblastos que se efectúa por mitosis. Entre los eritroblastos y leucoblastos no existiría, según Loewit, ningún lazo de parentesco. (Véanse las Memorias de este autor y especialmente sus: *Ueber Neubildung und Zerfall weisser Korperchen*, etc. *Sitzgsber. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien.*, 1885, Bd. 92.)

Las ideas de Loewit ofrecen mayor novedad en la forma que en el fondo. Sustituyendo á las palabras *eritroblasto* y *leucoblasto* las correspondientes de *célula semihialina* y *medulocele,* resulta un acuerdo casi completo entre la doctrina de este autor y la que nosotros exponemos en el texto.

Los trabajos recientes de Bizzozero (*Nuove ricerche sulla struttura del midollo delle ossa negli uccelli,* 1888) y de Doenys (La *structure de la moelle des os et la genere du sang ches les oiseaux. La cellule.* T. IV, fasc. I, 1888), sobre la hematogenesis en la médula de las aves, prueban que las células semihia-

linas y glóbulos rojos nucleados residen en el interior de capilares ó venas cavernosas, constituyendo estratos concéntricos por debajo del endotelio y en los cuales, como en el epitelio de los tubos seminíferos, pueden seguirse todas las fases de multiplicación y diferenciación de los hematíes embrionarios.

Una diferencia separa á Doenys de Bizzozero; ambos suponen que las células rojas engendran hematíes por kinesis y que los corpúsculos transformados se hacen de cada vez más centrales para caer finalmente en la corriente; pero mientras este autor afirma que todas las células endovasculares poseen hemoglobina, aquel asegura que solo encierran tal substancia los corpúsculos más próximos al centro vascular; los periféricos tendrían el carácter de los *eritroblastos* de Loewit ó de nuestras células *semihialinas*.

2.—**Origen de los leucocitos.** Durante el período embrionario, estos corpúsculos se forman al mismo tiempo que los hematíes, por diferenciación de las células mesodérmicas que integran los cordones del área vascular. En la sangre embrionaria es muy probable que se multipliquen por fisiparidad del propio modo que los glóbulos rojos nucleados.

Llegada la edad en que los aparatos hematopoyéticos están acabados, es decir, después del nacimiento, los leucocitos tienen su cuna en el bazo y en las glándulas linfáticas, de donde son arrancados por las corrientes de la linfa y de la sangre. Esta opinión adquiere gran verosimilitud, recordando que la linfa aferente á un ganglio contiene menos cantidad proporcional de leucocitos que la eferente. Pero aparte de tal origen, las diversas fases de división nuclear que se perciben en los leucocitos circulantes, indu-



Fig. 89.—Leucocito en vías de excisión de la sangre viva del pleurodelo Waltii.—*a*, núcleo; *b*, protoplasma; *c*, puente protoplasmático destinado á romperse.

cen á pensar que también se multiplican por excisión directa. En apoyo de este modo de ver, Stricker, Bizzozero y Ranvier, han sorprendido fenómenos de excisión en leucocitos vivos. Según Ran-

vier, éstos se multiplican en el axolote por una suerte de estiramiento del protoplasma y consiguiente ruptura. Por nuestra parte, hemos confirmado este fenómeno en la sangre viva del *pleurodelo Waltii*. La división se inicia por la partición del núcleo; cada uno de los núcleos hijos se coloca en un extremo del protoplasma, y la porción intermedia de éste se estira y adelgaza extraordinariamente (véase fig. 89), concluyendo por romperse. A veces el proceso aborta; el puente de protoplasma que estuvo á pique de escindirse se acorta y engruesa; los núcleos se aproximan y la célula se reintegra en su pristina forma.

3.—**Origen de las plaquetas.** Ignórase la procedencia de estos corpúsculos en la sangre embrionaria de los mamíferos. En la circulante del renacuajo, donde abundan sobremanera, parecen provenir de leucocitos embrionarios. Según Mondino, las plaquetas de los vertebrados inferiores proceden unas de otras por kariokinesis, opinión recientemente confirmada por Fusari.

5.—**Propiedades fisiológicas de la sangre.** Los hematíes carecen de propiedades vitales: no son contráctiles como los leucocitos, ni capaces de proliferación, siendo, bajo este aspecto, comparables á los prismas centrales cristalinos ó á las células córneas exentas de núcleo y ajenas á toda actividad fisiológica.

Pero si los hematíes han perdido las actividades primordiales del protoplasma, han conservado una de orden puramente químico, la atracción y conservación del oxígeno, trabajo para cuyo mejor desempeño han transformado gran parte de su masa en hemoglobina, substancia ávida de aquel gas. Este es el oficio orgánico que en la división del trabajo fisiológico le ha tocado al hematíe, y, como sucede siempre que las demás actividades vitales se amortiguan ó cesan, la propiedad que resta adquiere extraordinario desarrollo, marcando con sello especial anatómico al elemento sanguíneo.

Otra de las cualidades que denotan en el hematíe un resto de vitalidad, es la tenacidad con que sostiene su peculiar composición química, defendiéndose de las apetencias del plasma, que tiende á disolver su hemoglobina y á uniformar la composición salina de la sangre. Recuérdese que el hematíe es rico en fosfatos y en sales potásicas, al paso que el plasma lo es en cloruros y sales sódicas. Cuando el hematíe se destruye ó pierde el vestigio de vida que le

animaba, la hemoglobina le es arrebatada por el plasma, así como el oxígeno y las sales.

Los organismos pluricelulares constan de elementos de domicilio fijo, inmóviles y autóctonos. No pudiendo respirar cada uno de ellos directamente en el aire ó en el agua, como lo verifica un microbio ó un amibo, se hace precisa la existencia de un elemento intermediario que acarree aquella primera materia desde el mundo exterior hasta las moradas celulares. Este elemento propagador del oxígeno, es el hematíe.

El plasma ó materia fundamental de la sangre goza de propiedades exclusivamente físico-químicas. Su misión, de una parte, es recolectar en el intestino y en los órganos hematopoyéticos las materias disueltas y elementos de renovación de los hematíes, y de otra, extraer de las intimidades de cada tejido las substancias impropias para la asimilación, conduciéndolas á las glándulas excrementicias (pulmón, hígado, riñones, sudoríparas).

Al lado de los hematíes, células altamente especializadas, viven los leucocitos, elementos indiferentes que realizan por igual todos los actos fisiológicos (nutrición, relación, reproducción), y notables por su extraordinaria autonomía vital. Lo mismo manifiestan sus actividades dentro que fuera del organismo, en el seno del plasma que en medio de un líquido indiferente (solución de sal al 0'75 por 100). Como los amibos é infusorios, pueden nutrirse por englobamiento activo de las partículas que los rodean, y como ellos, se mueven arrastrándose sobre los cuerpos extraños á favor de sus contracciones. Durante los movimientos del protoplasma se ven las inclusiones cambiar de lugar y deformarse el núcleo. Éste, de circular, se hace alargado, y si es mamelonado, se estira desdoblándose las eminencias.

Estas alteraciones nucleares son apreciables en los leucocitos vivos á favor de poderosos objetivos; pero se demuestran mejor, comparando las figuras nucleares en reposo, reveladas por el agua acética, con las que ofrecen leucocitos fuertemente deformados.

Durante la actividad amiboide, surgen de la periferia del protoplasma apéndices que se ramifican, se estiran, se endelgazan, se engruesan, y finalmente se retraen, confundiéndose otra vez con el

cuerpo celular. Estos fenómenos suponen un retículo protoplasmático extremadamente dúctil, y una membrana elástica y maleable, pero blanda, como una capa gelatinosa, capaz de ser, á la menor presión, atravesada por cualquier cuerpo extraño.

Cuando se examina la sangre en los vasos vivos de los animales de sangre fría, se adquiere la convicción de que los hematíes son cuerpos muertos, al revés de los leucocitos, que son células jóvenes y activas. El hematíe circula por el centro del vaso capilar arrastrado pasivamente como un canto rodado. En sus tropezones con la pared, en sus colisiones con otros glóbulos, en el choque con los espolones de las dicotomias vasculares, se comporta lo mismo que un cuerpo inerte, pero flexible, dúctil y elástico. El leucocito, al contrario, circula por la periferia de la corriente, pero de un modo perezoso y como si opusiera cierta resistencia. Su marcha es ordinariamente dando tumbos por la pared, donde á veces se agarra, ora á favor de apéndices sarcódicos finísimos, bien por natural viscosidad. Su trayectoria es una resultante entre sus tentativas de detención y la dirección y la velocidad de la corriente. Solo cuando ésta es muy rápida (arterias) circulan los leucocitos con la velocidad de los hematíes.

En cuanto á las plaquetas, se las ve seguir á los hematíes en sus movimientos, sin apelotonarse ni adherirse á la pared, pues la viscosidad de que antes hicimos mérito es propiedad que solo adquieren fuera de los vasos.

Si la pared del capilar es blanda, como sucede, por ejemplo, en los vasos embrionarios de la cola del renacuajo, los hematíes, á poco que la presión sanguínea aumente, barrenan las células endoteliales, abandonando en parte la cavidad vascular, y disponiéndose en forma de bizcocho, con una eminencia interior combatida por la corriente, y un mamelón exterior inmóvil yacente en las zonas conjuntivas perivasculares. El puente de unión es delgadísimo, casi invisible, y prueba que el hematíe se ha filtrado por estrechísimo resquicio. Este fenómeno, que no es como algunos histólogos han afirmado, característico de la inflamación, se observa también en los vasos fuertemente congestionados, bien por detención del círculo (compresión de una vena de retorno), bien por hiperhemia inflamatoria (mesenterio de la rana inflamado por acción del aire). En este caso

pueden emigrar también los leucocitos, bien que tal fenómeno es más dificilmente observable.

6.—**Preparación de la sangre.** 1. *Examen de los hematíes en el hombre.* Nada más fácil que el estudio de los glóbulos rojos. No hay más que hacer una picadura en la yema de un dedo y extender la sangre así obtenida entre dos laminillas, teniendo cuidado que la capa de líquido no contenga más que una sola fila de hematíes. A fin de evitar la desecación y resguardar los glóbulos de la influencia atmosférica, se cementará la preparación con parafina, ó se lubrificará simplemente el contorno con aceite. A favor de este sencillo proceder, podrá formarse acabado concepto de la forma, tamaño, color, tendencia adhesiva, etc., de los glóbulos rojos, así como de sus propiedades químicas y alteraciones espontáneas, para lo que no hay más que depositar en un punto no cementado de la preparación una gota del reactivo que se pretende ensayar.

Si se desea estudiar la sangre de rana, animal que puede elegirse como tipo de los vertebrados ovíparos, el proceder de extracción y de preparación será análogo. Solo que convendrá, en vez de extraer la sangre por picadura ó sección de los dedos (lo que nos daría un líquido tan rico de linfa como de sangre), acudir al corazón mismo, donde aquel humor es puro y abundante.

De ordinario, no hace falta conservar las preparaciones de sangre; tan fácil es hacerlas y renovarlas. No obstante, puédense conservar en preparado definitivo los hematíes fijados por desecación rápida, los tratados por el ácido ósmico (al 1 por 100) y los impregnados por el yodo (disuelto en yoduro de potasio). Estos dos últimos reactivos consienten el montaje en la glicerina. Los glóbulos preparados por desecación se cubrirán no más de una laminilla.

2.—*Examen de las plaquetas.* El mejor proceder es estudiarlas en la sangre circulante, donde se muestran con todas sus propiedades fisiológicas (véase el examen de la circulación al microscopio). Para observarlas sin alteraciones en la sangre extraída, es preciso recoger este líquido en el licor conservador de Bizzozero: *agua destilada* 100, *cloruro de sodio* 0'75, *violeta de metilo* c. s., para dar al reactivo un matiz violeta obscuro. A este fin, lo más cómodo y lo más seguro es derramar una gota de este licor en el mismo paraje de la piel donde ha de practicarse la puntura; así la

sangre no toca ni un momento al aire y las plaquetas se conservan algunas horas con su forma típica. El estudio de las plaquetas alteradas y de las redes fibrinosas debe hacerse en la sangre pura, frescamente extraída. Unicamente con la mira de que las redes fibrinosas destaquen mejor, será provechoso el empleo de la solución yódica.

3.—*Leucocitos.* El examen de los leucocitos no reclama ninguna precaución particular. Se recordará solamente que los movimientos amiboides exigen para su observación en los animales de sangre caliente una temperatura próxima á 37°. En cuanto á los detalles estructurales de estos corpúsculos, los ácidos asociados á las anilinas los revelan perfectamente (véase el texto).

4.—*Circulación de la sangre.* Este interesante fenómeno puede sorprenderse fácilmente al microscopio en todos los órganos transparentes de los vertebrados; el mesenterio, la lengua y la membrana interdigital de la rana, las expansiones de la cola del renacuajo, y el epiplon y mesenterio de los pequeños mamíferos (rata, conejo de Indias, etc.), son las partes ordinariamente preferidas.

El más á propósito de los mamíferos para este examen, es el conejo indiano de pocas semanas. Antes de comenzar la maniobra principal se inmovilizará al animal por el método de Bizzozero, es decir, por inyección en la cavidad peritoneal de cierta cantidad de hidrato de cloral (2 gramos de solución acuosa al 5 por 100). A prevención, se tendrá dispuesto un porta-objetos de gran dimensión, en cuya parte central se habrá pegado con bálsamo del Canadá un anillo de corcho, tapado en su contorno superior por un cubreobjetos redondo. Este anillo y la laminilla de cristal que lleva, tienen por objeto sustentar el mesenterio del animal en posición elevada y con la debida planimetría. Así las cosas, rodeándose de toda clase de precauciones para evitar la hemorragia, se incindirán las paredes abdominales del conejillo y se extraerá un asa intestinal que, suavemente extendida, se colocará en torno del cilindro susodicho. Luego se llevará el todo á la platina del microscopio, se iluminará el preparado y comenzará la observación. Será de provecho, si aplicamos grandes amplificaciones, cubrir el mesenterio con una laminilla de cristal, lo que además de alisar el preparado evitará la evaporación.

Un aparato semejante, aunque de más reducidas dimensiones, utilizaremos también para demostrar la circulación en el mesenterio de la rana. Gracias á la pequeñez del animal, cabe todavía simplificar el aparato, reduciéndolo á un corcho perforado, que se colocará y adherirá encima del agujero de la platina. El mesenterio, extraído con las precauciones de rigor, se sujetará al corcho mediante agujas, y el cuerpo de la rana se colocará sobre la misma platina por delante de la columna del microscopio. La inmovilización se logrará en pocos minutos, inyectando en el saco linfático dorsal unas gotas de una solución de curare al milésimo. A fin de que no sobrevenga la asfixia, se mantendrá la respiración cutánea durante toda la experiencia, mojando de cuando en cuando la piel del animal.

La observación de la sangre puede también efectuarse en la membrana interdigital y en la lengua de la rana, aunque no con la limpieza y perfección que en el mesenterio. En todo caso, será preciso extender las partes transparentes, ó fijándolas con agujas á una tableta perforada, ó sujetándolas con hilos á este mismo soporte.

Pero en ninguna parte se percibe el fenómeno de la circulación con tanta claridad y belleza como en las expansiones membranosas de la cola del renacuajo y de las larvas del urodelo. La inmovilización se obtiene sumergiendo las larvas en una solución muy diluída de curare. La absorción del veneno no tiene lugar á través de la piel; pero desde el momento en que, á favor de una aguja, se infiere la lesión más insignificante, el veneno se absorbe y el animal se paraliza. En este estado, se le traslada á un portaobjetos, se cubre la cola de delgada laminilla y la observación puede dar comienzo, cabiendo continuarla por muchas horas, con tal de mojar contínuamente el cuerpo de la larva.

4.—*Examen de las células rojas nucleares, etc.* El proceder que más confianza debe merecernos para el estudio de estas células, es el examen en fresco, sin otro vehículo que el plasma que naturalmente empapa y separa los elementos vivos. A veces, los corpúsculos están tan apiñados (barro esplénico, médula ósea), que se hace precisa su separación y dilución: en tal caso, usaremos exclusivamente como vehículo inofensivo el licor sódico (sal, 0'50 á

o'75 por 100 de agua), que conserva no solo la forma, color, etc. de los hematíes embrionarios, sino los movimientos amiboides de los leucocitos y meduloceles. El ácido ósmico, el alcohol y los demás fijadores y colorantes deben proscribirse, pues alteran notablemente las células rojas nucleadas, enmascarando su coloración y haciéndolas con frecuencia irreconoscibles. Los reactivos del núcleo podrán usarse para completar el estudio de aquellos elementos. Unas gotas de ácido acético, mezcladas al licor sódico-metílico, convienen especialmente para la revelación del núcleo de los elementos hialinos y demostraciones de sus fases kariokinéticas. (Sobre la conservación de estas preparaciones, véase la técnica del tejido medular de los huesos.)

Para preparar las células rojas de Neuman de la médula de las aves, comienza Doenys por fijar trozos de tuétano en sublimado á saturación, ejecuta cortes finos previo encastramiento en parafina, tiñe en fuchina ácida, lava los cortes para extraer el exceso de color y colora en último término en el verde de metilo. Todas las células que contienen hemoglobina aparecen teñidas por la fuchina.

Bizzozero opera sobre el mismo objeto de estudio, del siguiente modo. Fija é indura la médula en líquido de Müller y acaba el endurecimiento en alcohol absoluto. Los cortes, previo englobamiento en parafina, son teñidos por la hematoxilina, lavados en agua y colorados subsiguientemente con una solución alcohólica de ácido pícrico. Aclaramiento y montaje en bálsamo.

Loewit, en un trabajo reciente (1891), preconiza el cloruro de platino como fijador de los órganos hematopoyéticos. Este agente fija la cromatina y pirenina de los leucoblastos y hace que se tiña mal por ciertos reactivos, cediendo el color al alcohol, cosa que no sucedería con los eritroblastos. De aquí la posibilidad de distinguir ambas especies de corpúsculos y de obtener dobles coloraciones.

5.—*Hemoglobina.* Para preparar fácilmente los cristales de la sangre, debe elegirse un animal cuya hemoglobina sea poco soluble en el plasma, como por ejemplo el conejillo de Indias. La sangre de este animal, despojada de la fibrina por el batido, se mezcla en proporciones iguales con éter sulfúrico. A los pocos minutos, la materia colorante, que se ha disuelto en el plasma, comienza á precipitarse en el fondo y paredes del recipiente bajo la forma de ele-

gantes tetraedros anaranjados, casi todos microscópicos. La observación se efectuará en el agua madre.

Desgraciadamente, estas preparaciones son dificilísimas de conservar. Hemos ensayado con tal fin la desecación, el ácido ósmico y el yodo; pero solo el alcohol absoluto nos ha proporcionado éxitos tolerables. El *modus faciendi* se reduce á tratar por el alcohol absoluto una capa extendida y todavía húmeda de cristales hemoglóbicos. Fijos los cristales por el reactivo, se lava el preparado y se conserva en glicerina. La forma de los cristales se conserva bien, pero desmerece el color.

CAPÍTULO VII.

LINFA Y QUILO.

1.—**Def.** La linfa es un tejido formado de glóbulos esféricos incoloros, análogos á los leucocitos sanguíneos y separados por una materia fundamental líquida.

2.—**Distribución y caracteres físicos.** Este líquido está alojado en un sistema vascular especial llamado linfático, anejo del sanguíneo, al cual aboca por sus troncos de terminación. El color de la linfa es blanco amarillento; su reacción débilmente alcalina y su densidad de 1,0044.

El quilo no es más que la linfa procedente del intestino durante la digestión. Se diferencia de la ordinaria, en que es más opaca, como lechosa, lo que depende de la gran cantidad de gránulos grasientos que lleva en suspensión.

3.—**Caracteres micrográficos.** Cuando se examina al microscopio una gota de linfa procedente del conducto torácico de un mamífero, se advierten, como en la sangre, dos cosas: glóbulos y materia fundamental líquida.

Los glóbulos son células blancas esféricas de 8 á 11 μ de diámetro, de aspecto granuloso y dotadas de contracción amiboide. En suma, son idénticas á los leucocitos sanguíneos, como lo prueban la igualdad de textura y de propiedades físico-químicas.

El número de glóbulos linfáticos es escaso ó nulo en los capilares de origen; pero á medida que la linfa va pasando por las glándulas linfáticas, los leucocitos aumentan, llegando en el conducto torácico á 1800 por milímetro cúbico.

Además de estos corpúsculos, vense en la linfa multitud de gránulos refringentes de extraordinaria pequeñez, formados de grasas neutras revestidas de una película albuminoide. Tales gránulos abundan sobremanera en el quilo.

Tratados estos granitos por el ácido acético, se disuelve la envoltura proteica y se reunen en gotitas. El éter no los disuelve por completo, ni el ácido ósmico les presta tan intenso matiz como á las grasas neutras, por lo cual es de creer que las citadas granulaciones sean una mezcla de grasas y de materias proteicas.

Quilo. Es la linfa procedente del tubo intestinal durante la digestión. A diferencia de la linfa proviniente de otros órganos, el quilo es opaco con aspecto lactescente. Su peso específico es de 1.012 á 1.022.

Contiene el quilo leucocitos de tamaño vario (5 á 15 μ) y, sobre todo, notable cantidad de las partículas grasientas antes mencionadas. La finura de estos gránulos es tal, que es imposible mensurarlos. Al lado de ellos se notan, además, otros menos numerosos, de 0'2 á 1 μ, cuyas propiedades físico-químicas los aproximan á las granulaciones de la sangre.

En los intérvalos de la digestión, los vasos quilíferos arrastran linfa con todos sus caracteres.

En el interior del conducto torácico, cerca de su desembocadura, ciertos histólogos han hallado hematíes y formas intermedias con los leucocitos. La existencia de las formas de transición nos parece dudosa, y en cuanto á la presencia de hematíes, pudiera atribuirse, ó á refluencia de la sangre en las vías linfáticas, ó á la mezcla accidental de ésta durante las maniobras de extracción de la linfa.

4.—**Caracteres químicos de la linfa y quilo.** a.—*Glóbulos.* Las células linfáticas suelen encerrar, aparte los factores ordinarios del protoplasma y núcleo, *substancia glucógena,* evidenciable por el yodo que le presta un matiz rojo caoba, *inclusiones grasientas* y partículas extrañas, frecuentemente derivadas de hematíes destruídos. Algunas células contienen también unos gránulos muy refringentes, redondos ó de forma alargada, muy ávidos de la eosina (granos *eosinófilos* de Ehrlich).

b.—*Plasma.* El plasma linfático es un líquido transparente, ligeramente cetrino, alcalino, más rico en agua que el de la sangre, y espontáneamente coagulable. La linfa no coagula sino fuera de los vasos, bajo la acción del aire, y áun así necesita un tiempo relativamente largo (de 12 á 20 minutos). El coágulo es blanco, más

blando y pequeño que el de la sangre, á consecuencia de la escasez de elementos englobados. Bajo la acción prolongada del oxígeno del aire, adquiere matiz rosáceo claro, atribuído, bien que sin suficientes pruebas, á una formación hemoglóbica incipiente.

La composición química del plasma no está plenamente determinada: la poca cantidad de linfa que puede recolectarse y las grandes alternativas de composición sufridas por este líquido, según el estado funcional de los tejidos de que dimana, dan cuenta de las discrepancias de los análisis hasta hoy publicados.

Hé aquí el de Schmidt con referencia á la linfa del asno:

Mil partes de linfa contienen: *suero,* 955'2; *coágulo,* 44'8.

Cada mil partes de coágulo húmedo encierran: *agua,* 907'3; *fibrina,* 48'7; *albúmina, grasas y otras materias orgánicas,* 34'3; *sales,* 9'7.

Cada 1.000 partes de suero comprenden: *agua,* 957'6; *albúmina,* 32'0; *grasas,* 1'2; *otras materias orgánicas,* 1'8; *sales,* 7'4.

Los gases de la linfa, según Hammarsten, alcanzan el 42'28 por 100 en peso de ésta. Estos gases se descomponen en *ázoe,* 1'63; *oxígeno,* 0'43; *ácido carbónico,* 40'32. Las proporciones de estas substancias varían extraordinariamente en los diversos sistemas y según el estado activo ó pasivo de los órganos.

Según Hensen y Dähnhard, la linfa obtenida en el hombre, mediante una fístula linfática del muslo, consta:

Albuminoides. . . .	2,6	1,070 fibrinógena 0,984 serumglobulina 1,408 serumalbumina
Grasa, colesterina, leciticina. .	0,03	
Materias extractivas.	1,28	
Sales.	8,38	
Agua.	987,07	

El quilo posee análoga composición química que la linfa. Es también coagulable bajo la acción del aire. Se distingue de la linfa por contener más grasa y menos hierro.

Hé aquí la tabla analítica del quilo, según Hoppe-Seiler:

Albuminoides.	36,665
Colesterina.	1
Grasa.	7
Lecitina.	0,829
Jabones.	2
Extracto alcohólico. . . .	3
Extracto acuoso.	0,5
Sales..	6

5.—**Propiedades fisiológicas de la linfa y el quilo.** Los leucocitos de la linfa gozan de iguales propiedades que los de la sangre. Bajo una temperatura de 25° á 40° en los mamíferos y á la ordinaria en los peces, batracios y reptiles, muestran las células los dos movimientos de deformación y de traslación amiboides. Una temperatura de 43° suprime estas actividades, recobrando las células la forma esférica que poseen mientras circulan por el organismo. Las corrientes eléctricas las paralizan; los ácidos y la mayor parte de las substancias colorantes las matan. Las células muertas se conocen en que ostentan claramente el núcleo y no ofrecen resistencia á los agentes tintóreos.

Ya en otra ocasión hemos expuesto la propiedad emigrante de los leucocitos. Este fenómeno se prueba fácilmente en los elementos linfáticos por un curioso experimento de Ranvier. Si se abandona por veinticuatro horas un trozo de médula de saúco en el saco linfático dorsal de la rana, se advierte que las células linfáticas han invadido los divertículos superficiales de aquélla y pasado algunas hasta las cavidades más profundas, insinuándose por los pequeños agujeros que las ponen en comunicación. Ranvier afirma que las células centrales están muertas ó degeneradas por falta de oxígeno y de la conveniente renovación nutritiva. Este último hecho no lo hemos podido confirmar, pareciéndonos que apenas discrepan en cuanto á vitalidad las células superficiales y profundas; tanto más, cuanto que las cavidades más hondas del pedazo de saúco conservan siempre cierta provisión de aire capaz de entretener por largo tiempo la contractilidad de los leucocitos.

El papel fisiológico desempeñado por los leucocitos, es todavía obscuro. Para Ranvier y Renaut, las células linfáticas serían glándulas unicelulares errantes y el producto segregado estaría repre-

sentado por las granulaciones intraprotoplasmáticas, tan bien estudiadas en estos últimos años por Ehrlich. La aparición del núcleo, después de la muerte de tales corpúsculos, se debería á un fenómeno de digestión del protoplasma.

Para Metschinikoff, los leucocitos ó *fagocitos,* como él los llama, representarían una especie de milicia fácilmente movilizable, con la cual se defiende el organismo de las incursiones de los microfitos. Los *fagocitos,* en contacto con los parásitos y solicitados quizás, como quieren Massart y Bordet, Gabritschewski, Buchnerd, por las excreciones de éstos (acción *quimiofáxica*), corren al encuentro del enemigo, atravesando las paredes vasculares y engullendo y destruyendo, por digestión intracelular, á los intrusos.

6.—**Origen de las células linfáticas.** Punto es este donde pocos autores concuerdan. Las escasísimas células existentes en los capilares linfáticos de los órganos, es decir, antes de que la linfa atraviese ganglio alguno, es opinión muy generalmente admitida que provienen del tejido conjuntivo, por inmigración activa de sus corpúsculos movibles, aunque bien pudieran dimanar también de los leucocitos transmigrados de la sangre. En cuanto á los más numerosos leucocitos que la linfa exhibe después de atravesar los ganglios, es razonable pensar que dimanan de éstos por una suerte de arrancamiento ó arrastre de las células foliculares. A este origen es preciso atribuir los corpúsculos más diminutos de la linfa compuestos del núcleo y delgado limbo de protoplasma, pues tales células son abundantísimas en los ganglios.

No obstante la verosimilitud de esta opinión, dudamos mucho que la mayor parte de los leucocitos de la linfa procedan de los ganglios, ni creemos que todos los elementos de las folículos linfáticos estén destinados á transformarse en leucocitos. El corpúsculo más común de la linfa es uno de 9 á 11 μ, de protoplasma abundante y de núcleo múltiple, ó en vías de gemación (V. leucocitos de la sangre), elemento ausente de los folículos; y por otra parte, yacen en éstos multitud de células gruesas, de 12 á 20 μ, provistas de un núcleo voluminoso, esférico, á menudo en vías de excisión kariokinética, rodeado por abundante protoplasma absolutamente hialino y colorable por el violeta de metilo, células que jamás aparecen en la linfa. Así que hay que suponer, ó que los corpúsculos de los

ganglios se transforman inmediatamente de su acceso en el plasma linfático, como supone Loewit para sus leucoblastos (que después de formar los leucocitos mononucleares, originarían los polinucleares, etc.), ó es preciso buscar en otros órganos, tales como la médula ósea ó el bazo, el origen de los leucocitos con núcleo vegetante ó múltiple.

7.—**Preparación de la linfa y quilo.** Para efectuar el examen de estos líquidos en los animales superiores, se elegirá un mamífero de gran talla (asno, caballo) muerto en plena digestión. A favor de una pipeta capilar, se tomará linfa del conducto torácico ó de los linfáticos del mesenterio, muy visibles cuando están ingurgitados por el quilo.

En los animales inferiores es más difícil recoger linfa perfectamente pura. No obstante, en la rana cabrá obtenerla casi pura, introduciendo un tubo capilar esterilizado en el saco linfático dorsal y soplando el líquido, que haya penetrado por capilaridad, sobre un porta-objeto. Prolongando la observación algún tiempo, se comprobarán fácilmente los fenómenos de contractilidad amiboide y de englobamiento de corpúsculos extraños.

CAPÍTULO VIII

TEJIDOS CONJUNTIVOS

Consideraciones generales.

Los tejidos conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, óseo y dentario, poseen caracteres comunes que conviene exponer antes de entrar en el estudio particular de cada uno de ellos. Tan estrecho es el parentesco de estos tejidos, que cabría á ejemplo de Reichert, considerarlos como simples variedades de una forma fundamental de la que todos derivan por diferenciaciones anatómicas y adaptaciones funcionales. Esta forma matriz es el tejido conjuntivo embrionario, compuesto de células esféricas ó alargadas, separadas por una materia semilíquida hialina. El tejido conjuntivo fibroso resulta de la precipitación de hebras colágenas y elásticas, en esta materia fundamental. La calcificación de estas fibras determina la variedad ósea. La condensación y apretamiento de las fibrillas hasta imitar la homogeneidad del cristal, originan la variedad cartilaginosa. El tejido adiposo resulta del depósito de gotas grasientas en el seno de células conectivas preexistentes.

Hé aquí un breve resumen de las semejanzas principales en que descansa la sistematización de las formas conjuntivas.

a.—*Analogías genéticas.* Los tejidos conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, óseo y dentario, derivan del mesodermo. Jamás una hoja epitelial, ecto ó entodérmica, engendra un tejido de substancia conjuntiva.

b.—*Analogías extructurales.* Los expresados tejidos constan siempre de células comunmente aplanadas y estelares, separadas por materia intersticial abundante, descomponible en finísimas hebras. Estos filamentos se presentan aún en la materia fundamental del

tejido óseo y cartilaginoso, con tal de que se la someta á la acción de ciertos agentes aisladores.

c.—*Analogías químicas.* La substancia intersticial de estos tejidos encierra un derivado proteico impropio para la nutrición celular, cuya característica es ser reductible por la cocción prolongada á jalea. El óseo y el conjuntivo dan origen á la *gelatina* ó *gelina;* el cartilaginoso á la *condrina,* materia muy afine de la anterior.

d.—*Analogías fisiológicas.* Identifícanse estos tejidos también por sus funciones, que son: constituir el esqueleto del organismo y servir de medios de unión, protección y soporte de casi todos los elementos y órganos. Por esta pasividad fisiológica han merecido de Kölliker, el nombre de tejidos *de sostén,* y de Müller el de tejidos de *substancia conjuntiva.*

La analogía de sus propiedades físico-químicas da lugar á que la naturaleza los emplee indistintameute en la confección de las partes esqueléticas de los animales. Así el tejido óseo de los peces es el dentario de los mamíferos. El tejido cartilaginoso reemplaza al óseo en el esqueleto de las larvas de batracio y de ciertos peces. Órganos fibrosos en una especie zoológica son óseos ó cartilaginosos en otras. Semejante sustitución de tejidos no sólo tiene lugar en seres diversos, sino en un mismo animal durante el curso de su desarrollo. Por ejemplo: el tejido óseo atraviesa por las fases conjuntiva y cartilaginosa; ciertos cartílagos toman, calcificándose, algunas de las propiedades del hueso, ó, fibrilándose, las del tejido conectivo; este último puede transformarse directamente en hueso (osificación craneal).

Agreguemos aún, que en los parajes donde estas formas se tocan, únense sin violencia por gradaciones suaves, y que en la génesis patológica cada tipo conjuntivo es susceptible de originar todos los demás.

TEJIDO CONJUNTIVO.

3.—**Def.** Llamado también unitivo, fibrilar, celular y conectivo, es una variedad del grupo de substancias conjuntivas caracterizada por dos especies de formas: 1.ª, *fascículos* de finísimas hebras unidos por una materia homogénea y semilíquida; y *células* aplanadas,

frecuentemente estelares, con depresiones y crestas en sus caras para adaptarse á la superficie de los fascículos.

2.—**División.** El tejido conjuntivo se muestra con los mismos rasgos esenciales en todo el organismo; mas como en cada localidad orgánica tiene que cumplir fines algo distintos (unión, protección, soporte, etc.), modifícanse un tanto su estructura y propiedades físicas. Estas adaptaciones topográficas pueden resumirse en las siguientes variedades: el *tejido conjuntivo laxo,* el *tendinoso,* el *corneal,* el *reticular* ó *membranoso* y el *adenoides.* No incluímos el neuróglico por ser una variedad del tejido nervioso, ni el mucoso por pertenecer á la época embrionaria.

3.—**Distribución general.** El tejido conectivo hállase en todas las localidades orgánicas. No hay órgano que no lo contenga, ni intersticio que no esté rellenado por él. Además de entrar como factor importante en la constitución de los órganos, contribuye á aislarlos y unirlos, triple papel que supone otras tantas formas macroscópicas: *conjuntivo intersticial* (que une células ó grupos de células); *interorgánico* (que une á los órganos), y el *membranoso* (que los enquista ó limita distinguiéndolos de los vecinos). Entre las partes especialmente protegidas por el tejido conectivo, figuran las vasculares y nerviosas. Fórmales vainas aisladoras de sus centros y troncos y sigue á lo largo de las ramas y ramitas, no permitiendo que en su camino se pongan en contacto inmediato con las células. Bajo este punto de vista, el tejido conjuntivo puede estimarse como un vasto y complicadísimo armazón que soporta los árboles vascular y nervioso.

Aparte de este papel de relleno orgánico, constituye también el tejido conectivo órganos especiales (tendones, ligamentos, aponeurosis, etc.).

4.—**Caracteres físicos.** El tejido conjuntivo laxo es de un color blanco grisáceo semitransparente, extensible y elástico. La variedad tendinosa es más dura, menos extensible, y ofrece, examinada en gruesas masas, un aspecto nacarado. Sometidas ambas formas á la desecación, conviértense en una masa amarillenta y frágil, susceptible de recobrar sus perdidas propiedades físico-químicas cuando es nuevamente hidratada. Según Engel, la densidad del tejido fibroso (dura-madre) es de 1‘073, cifra que Krause hace subir á 1‘076.

5.—**Caracteres micrográficos.**—A. *Tejido conjuntivo laxo.* Examinaremos primeramente el tejido conjuntivo laxo, variedad la más general y típica, así como la más importante. Al estudiar las demás modalidades conjuntivas expondremos, á fin de no repetir caracteres comunes, solamente los peculiares á cada una.

Cuatro cosas revela el microscopio en este tejido: 1.°, *materia amorfa;* 2.°, *hacecillos y fibras conjuntivas;* 3.°, *fibras elásticas,* y 4.°, *células fijas y emigrantes.*

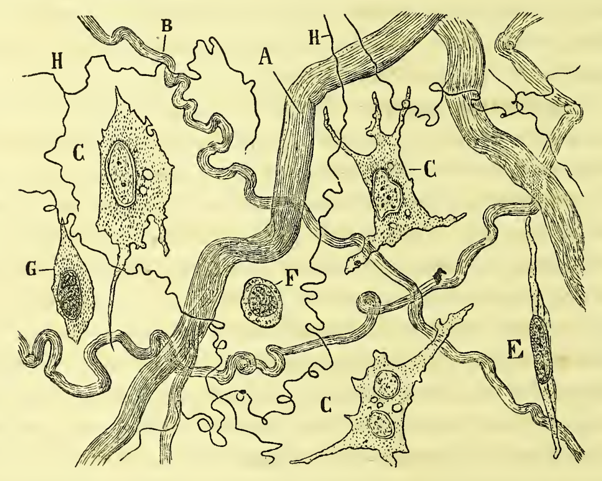


Fig. 90.—Tejido conjuntivo laxo de la piel del conejo común.—Inyección intersticial con el licor salino metílico de Bizozzero.

A, fascículo conectivo grueso; B, otro más delgado; C, células fijas vistas de plano; E, célula fija vista de perfil; F, célula emigrante; G, elemento de transición entre las fijas y emigrantes; H, fibras elásticas independientes y en red (Ob. E, oc. 4 Zeiss.)

a.—*Materia amorfa.* Es una substancia semilíquida, hialina, que llena todos los intersticios que dejan entre sí los fascículos, y que el nitrato de plata tiñe de castaño obscuro á semejanza del cemento de los tejidos epiteliales. La poca consistencia de la materia amorfa explica la movilidad de los haces conjuntivos, y su fácil despegamiento bajo la influencia de las inyecciones intersticiales. La linfa ó los líquidos de nutrición circulan libremente por la citada materia, mezclándose á ella y reglando su consistencia y cantidad.

En ciertas variedades conectivas (tejido embrionario, mucoso,

etcétera) la substancia amorfa constituye toda la materia intercelular, pero en los tipos más diferenciados del tejido conjuntivo, á dicha substancia se agregan fascículos y fibras de propiedades físico-químicas distintas.

b.—*Fascículos conjuntivos.* (Fig. 90 A, B). Son haces de finísimas y transparentes hebras que surcan la materia amorfa en todas direcciones. El diámetro de estos manojos es sumamente variable, oscilando por lo común entre 2 μ y varias centésimas. Su curso es tortuoso, ondulado á la manera de bucles de cabellos, ofreciendo, en estado de laxitud, dos clases de inflexiones: unas en grandes zigzags á cuyo nivel cambia la dirección general del fascículo, y otras más suaves y próximas que apenas la modifican. Es de notar, que tales inflexiones se repiten de ordinario á regulares distancias y casi siempre en opuesto sentido, es decir, en zigzag, por más que puedan también disponerse bajo otras formas y direcciones. Cuando se sigue cuidadosamente todo el itinerario de un fascículo, se advierte que en uno ú otro punto pierde su individualidad, unas veces descomponiéndose en otros manojitos, otras incorporando sus fibras con los demás, frecuentemente ramificándose y reuniendo nuevamente sus fibras, pero sin que en éstas pueda nunca sorprenderse comienzo ni terminación. Así que puede considerarse el conjunto de los fascículos conjuntivos como una vasta red, cuyas mallas, así como los trabéculos limitantes, varían en forma y extensión al infinito. Estas mallas ó espacios interfasciculares se llaman lagunas conjuntivas. En estado normal son estrechísimas, hallándose lubrificadas por escasa cantidad de linfa y materia amorfa, pero adquieren extraordinario desarrollo por la insuflación, las inyecciones intersticiales y á consecuencia de ciertos derrames patológicos (anasarca, infiltración sanguínea).

El fascículo conectivo presenta una textura francamente fibrilar, revelable aun con débiles objetivos. Esta estructura no se deduce solamente de la estriación longitudinal de los manojos, sino de la percepción individual de las fibras, especialmente fácil en el arranque de los fascículos hijos ó ramificaciones de los gruesos. Todas las preparaciones frescas ó á lo más examinadas en solución salina indiferente, muestran fibrillas aisladas de naturaleza colágena, y, en todo caso, nada más sencillo que disociarlas con las agujas en

los fascículos gruesos (haces tendinosos). Cualquiera que sea el procedimiento aplicado para aislarlas, las fibrillas se nos presentan siempre como hilos finísimos, casi inmensurables (tienen menos de 0'2 de μ de grueso), de bordes correctos y paralelos. No es fácil decidir acerca de su forma, aunque se supone cilíndrica. Su color es pálido y su aspecto absolutamente hialino. Jamás aparecen ramificadas, anastomosadas ni engrosadas en su itinerario.

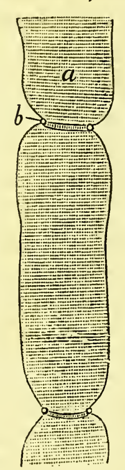


Fig. 91.—Fascículo conjuntivo del perro, tratado por el picrocarminato y subsiguientemente por el ácido acético al 1 por 100. *a*, materia fibrilar hinchada y como vítrea; *b*, anillo de Henle en cuyos extremos se observa la sección óptica de la fibra que lo forma.

Los hacecillos conectivos se tiñen de rosa por el picrocarminato, adquieren ligera tinta por la hematoxilina y las anilinas, pero repugnan la eosina, el ácido pícrico, el ósmico, el cloruro de oro, etc. El nitrato de plata los amarillea y aun puede teñirlos de castaño obscuro, en cuyo fondo destacan de manera correctísima los corpúsculos conjuntivos. Si, después de teñir la preparación con el carmín, se trata por el ácido acético diluído (1 por 100 durante veinticuatro horas), los fascículos se decoloran, se hinchan desmesuradamente, desapareciendo todo rastro de textura fibrilar y mostrando, de trecho en trecho, un anillo que rodea y constriñe la substancia fascicular. La fibra que constituye este anillo es pálida, de contorno limpio, de 1 á 2 milésimas de anchura, y de sección óptica redonda, como se comprueba enfocando los bordes del fascículo (fig. 91). La inextensibilidad de esta fibra y su posición en torno de la cubierta del hacecillo á la que refuerza, explican bien la extrangulación que á su nivel sufre la substancia fibrilar hinchada por el ácido acético. Las dudas que, en cuanto á la preexistencia de estos anillos pudieran suscitarse, han sido en parte disipadas por Ranvier, quien los ha observado en preparaciones frescas de tejido conjuntivo edematoso.

Los cortes transversales de los gruesos fascículos muestran campos redondeados, triangulares, etc., frecuentemente divididos en áreas más pequeñas correspondientes á la sección de hacecillos

secundarios. Enfocando bien la superficie de sección, se advierten, aunque con cierta vaguedad, los extremos de las fibras, y entre éstas una ganga amorfa, semisólida, sumamente pálida, que se extiende en delgado limbo por la periferia del fascículo. Esta zona limitante se ha denominado impropiamente *cubierta* del haz conectivo. (Fig. 93.)

c.—*Fibras elásticas.* En medio de los citados elementos, contrastando con la palidez de las fibras y haces conjuntivos, obsérvanse otras hebras más gruesas y refringentes que surcan las lagunas en todas direcciones. Jamás se disponen en hacecillos; su diámetro varía entre 0'5 μ y 2 μ; su curso es tortuoso, á veces espiral, frecuentemente interrumpido por lazos y enredamientos caprichosos; su contorno es puro y riguroso, y la materia de que se forman, homogénea, brillante y de fractura como vítrea. Gozan las fibras elásticas de gran afinidad por el ácido pícrico y por las anilinas, pero rechazan el carmín y la hematoxilina. Su gran resistencia á los álcalis y á los ácidos, las diferencian perfectamente de las hebras conjuntivas.

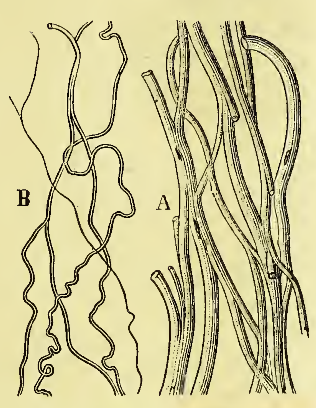


FIG. 92.—Fibras elásticas aisladas por el ácido acético.
A, red de gruesas fibras de los ligamentos amarillos del hombre; B, red de fibras más delgadas procedente del tejido celular subcutáneo.

Los elementos elásticos pueden adoptar tres formas: 1.ª, de *fibrillas independientes;* 2.ª, de *redes;* 3.ª, de *membranas con perforaciones.*

Las *fibras independientes* son las más finas y se las ve preferentemente en el dermis cutáneo, en el tejido conjuntivo submucoso é intersticial de casi todos los órganos. Las *en red* son gruesas y ramificadas; hállanse en el tejido conjuntivo subcutáneo, en torno de los músculos, en los ligamentos amarillos, y especialmente, en el seno de la túnica media y externa de las arterias. Las redes más tupidas y las fibras más robustas yacen en los ligamentos amarillos y cervical posterior, órganos casi exclusivamente compuestos de esta variedad fibrilar. No es raro ver en los elementos elásticos

espesos ciertas perforaciones y una vaga estriación longitudinal perceptible, sobre todo en la vecindad de las ramificaciones (figura 92). Las *membranas elásticas* son redes de fibras cuyas mallas se han estrechado extraordinariamente por consecuencia del ensanchamiento de los tallos. Su asiento es la túnica media de las arterias gruesas y la zona de unión entre la media y externa en las medianas.

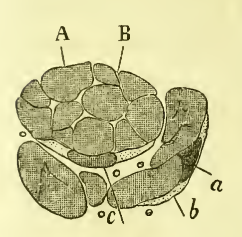


Fig. 93.—Cortes transversales de fascículos conjuntivos del tejido subcutáneo del hombre.—Fijación al alcohol, coloración al picrocarminato. A, hacecillos más pequeños contenidos en un fascículo grueso; B, intersticio ocupado por materia amorfa que continúa entre las fibrillas.—*a*, célula conectiva fija con un protoplasma continuado en *b*; *c*, otra célula aplicada á un grueso fascículo.

d.—*Células fijas ó sedentarias*. Entre los fascículos conjuntivos, exactamente moldeados á sus caras, yacen unos corpúsculos aplanados ó laminares en un todo comparables á las células endoteliales. La mayor parte abrazan y tocan á un fascículo, aunque sin contornearlo del todo; otras abarcan dos ó más, ofreciendo por sus caras, á fin de que el ajuste sea más exacto, crestas ó prolongaciones de protoplasma penetrantes en los huecos interfasciculares. Estas crestas de impresión son constantes en el tejido conjuntivo denso, donde los fascículos están tan prietos que obligan á las células á desparramar su masa, vaciándose, digámoslo así, por todos los huecos del tejido; pero en la variedad laxa son menos frecuentes, y aun pueden faltar por completo, por virtud de la abundancia de la materia amorfa y holgura de las lagunas conjuntivas. (Fig. 93 a, c).

Vistas de plano, muestran las células configuración poligonal, con bordes irregulares y arqueados, difícilmente visibles, por virtud de la extrema delgadez del protoplasma. A menudo, surgen de cada uno de los ángulos apéndices protoplasmáticos de vario espesor y longitud que dan á la célula configuración estelar. (Fig. 90 C.) Ni es raro ver tales prolongaciones ramificarse y áun anastomosarse con las emanadas de los elementos vecinos, disposición normal en la córnea y en el tejido conectivo de los vertebrados inferiores (batracios).

La abundancia de apéndices y de anastómosis depende, en gran parte, de la técnica seguida para su demostración. Si, á ejemplo de

Ranvier, inyectamos en el tejido conjuntivo una solución de nitrato de plata (1 por 500), ácido ósmico, picrocarminato, etc., todas ó casi todas las prolongaciones protoplasmáticas se retraerán, apareciendo las células como láminas de forma poligonal arrugadas y no pocas veces fusiformes. Pero si practicamos la inyección intersticial con un líquido inofensivo colorante (licor sódico-metílico de Bizzozero), los corpúsculos se presentarán más anchos, con mayor número de apéndices y con algunas anastómosis. Por este proceder de preparación, el núcleo de las células se tiñe de violeta intenso, el protoplasma de violado claro, los fascículos conjuntivos quedan incoloros y las fibras elásticas se impregnan enérgicamente. Nuestras experiencias prueban que el licor sódico-metílico goza, respecto de los corpúsculos conjuntivos, de iguales propiedades que con relación á las plaquetas sanguíneas: no deforma las células, antes bien impide sus alteraciones algún tiempo, prestándolas mayor resalte y visibilidad.

El tamaño de las células conectivas fijas oscila entre 20 y 30 μ; algunas alcanzan dimensiones colosales (conejillo de Indias). Su espesor es de 2 á 4 μ.

El núcleo es redondeado ó elíptico, algo aplastado en sentido del aplanamiento celular: contiene una membrana cromática y una red incompleta y laxa de esta substancia, cuyas gruesas nudosidades constituyen los nucleolos.

El protoplasma es más turbio y colorable por las anilinas en la proximidad del núcleo que en las zonas periféricas. Con buenos objetivos ($\frac{1}{30}$ Zeiss) se advierte en estos parajes, preferentemente en el arranque de las prolongaciones, una textura limpiamente fibrilar. En ciertos casos (células conjuntivas del epiplón mayor del gato y conejo recién nacidos), aparecerán las fibras del retículo como deshilachadas en el contorno protoplasmático, pudiendo seguírselas hasta los apéndices celulares que constituyen, ya aisladas, ya asociadas (fig. 94). El protoplasma de los corpúsculos alterados por el agua, picrocarminato ó por un principio de descomposición, exhibe vacuolas en número y extensión variables. Estos huecos, á cuyo nivel no se percibe el retículo, son redondeados y están llenos de un líquido claro, probablemente agua arribada por endósmosis.

En cuanto á la cubierta celular, si existe, debe ser extraordinariamente delicada, pues no puede demostrarse, áun echando mano de los más poderosos objetivos. El agua que pone en evidencia la de los leucocitos, aquí no tiene influencia sensible.

e.—*Células emigrantes.* Además de las células descritas, se ven en las lagunas conjuntivas otros corpúsculos, escasos en número, de forma esferoidal ó poliédrica, sin apéndices protoplasmáticos, y de un diámetro variable entre 10 y 18 μ. Son independientes, contráctiles y no afectan relación constante con los fascículos. Su espesor considerable les da riguroso contorno, y es causa de que, sometidos á los agentes tintóreos (anilinas), aparezcan más teñidos que los fijos. (Fig. 90, F.)

Su núcleo único es esférico, voluminoso; llena casi todo el protoplasma, y es muy rico en cromatina.

a
b
c

Fig. 94.—Célula conjuntiva del epiplón mayor del perro recién nacido. —Fijación al alcohol, coloración á la eosina y hematoxilina.
a, membrana nuclear; *b*, red cromática floja del núcleo; *c*, reticulum deshilachado del protoplasma.—Examen con Ob. $\frac{1}{30}$ apocr. Zeiss. oc. 5.

Estas células se han estimado por los histólogos como leucocitos sanguíneos ó linfáticos trasmigrados. Pero conviene hacer notar que jamás aquéllas exhiben el núcleo múltiple ó con arborizaciones mamelonadas, característico de casi todos los leucocitos. Además, es extremadamente fácil reconocer la existencia de formas de paso entre las células emigrantes y las fijas (fig. 90, G.) Así que juzgamos muy verosímil que los elementos llamados emigrantes sean las formas embrionarias de los fijos, opinión que adquiere mayor grado de probabilidad, recordando que al lado de éstos no existen más elementos jóvenes que aquéllos.

f.—*Células del plasma ó perivasculares.* Waldeyer ha descrito en el tejido conectivo de ciertos órganos (testículo, lengua, mesenterio, etc.), unas células gruesas de forma poliédrica ó estelar, provistas de un protoplasma abundante, donde se encierra gran número de gránulos refringentes, muy afines de ciertas anilinas (violeta de

dalia, violado de metilo, etc.) Dichas células habitan preferentemente en la proximidad de los vasos, por lo cual se las conoce también con el nombre de elementos perivasculares. La significación de tales corpúsculos es todavía dudosa.

Las células del plasma han sido tomadas por Ehrlich y otros como corpúsculos sobrealimentados ó excepcionalmente nutridos. Así se encontrarían abundantes en los focos inflamatorios y en los alrededores de tumores, etc. Los granitos intraprotoplasmáticos son albuminoides, insolubles en alcohol, solubles en ácido acético y ávidos de las anilinas básicas.

g.—*Células melánicas*. En la coroides, iris, piamadre, etc., del hombre y vertebrados superiores, y en muchas regiones de los inferiores (piel, vasos, sistema nervioso, etc., de los batracios, reptiles y peces), hállanse unos corpúsculos poliédricos, fusiformes ó estelares, cuyo protoplasma está cuajado de granitos melánicos. Estos granos son morenos ó negros, á veces amarillentos; sepáranse por una ganga granulosa de protoplasma apenas visible. El núcleo es redondeado ó elíptico, yace en el centro de la célula y á su nivel frecuentemente falta el pigmento.

En los batracios adquieren estas células grandes dimensiones y se presentan bajo formas muy desemejantes. Unas veces constituyen una estrella de radios ramificados no anastomosados, otras una red complicada y extensa que irradia del núcleo, y otras una membrana con perforaciones.

Los elementos pigmentarios de los batracios y de ciertos seres inferiores (moluscos *cefalópodos)* son contráctiles. Por consecuencia de esta propiedad, la piel de estos animales puede cambiar de coloración. Una contracción enérgica aclara el color de la piel, á causa del área más estrecha ocupada por las células. La relajación de las expansiones y su ramificación, extendiendo el *pigmentum* sobre más ancha superficie, da lugar al fenómeno contrario.

Lo curioso es que tales cambios se deben á la influencia del sistema nervioso, al menos en los cefalópodos. En la piel de estos animales los corpúsculos melánicos *(cromatóforos)* están dispuestos en varias capas de distinto color, cada una de las que puede, bajo el imperio de la voluntad, contraerse, alterando la coloración general y determinando infinitos cambiantes y matices.

No es menos eficaz la acción luminosa; una luz intensa relaja las células melánicas de la piel de los batracios, ennegreciéndola, al revés de la obscuridad que obra estimulando las contracciones, y, por tanto, aclarándola. La misma secreción melánica parece depender del influjo luminoso. El *proteo,* animal de piel incolora, que habita obscuras cavernas, adquiere color moreno y abundantes formaciones melánicas algún tiempo después de sometido á la influencia del sol.

B.—*Tejido conjuntivo fibroso.* Los ligamentos, tendones y aponeurosis constan también de fascículos y células, mas la disposición de unos y otras presenta algunas variantes que conviene conocer.

Los fascículos son larguísimos, tanto como el órgano que constituyen, rectilíneos cuando tensos, flexuosos ú ondulantes cuando flojos. Su dirección es paralela á la del eje del órgano (tendones), apretándose íntimamente y dejando entre sí espacios lineares, excesivamente estrechos, representantes de las lagunas conectivas de la variedad laxa.

Los cortes transversales dan á conocer la forma de los fascículos, que es cilindroidea y más á menudo prismática. Su espesor oscila entre 10 y 30 μ.

De la reunión de varios haces pequeños (manojos primarios) se constituyen otros más gruesos perceptibles á simple vista (manojos secundarios ó compuestos). Estos nuevos fascículos están separados por tejido conjuntivo laxo y una membrana endotelial. Este tejido laxo comunica ampliamente entre sí, forma alrededor del tendón una cubierta protectora, y es el portador de los vasos y nervios.

c a b

Fig. 95.—Fascículo secundario de un tendón de la cola del ratón. —Disociación en fresco, fijación consecutiva al alcohol y coloración á la hematoxilina.

a, serie celular situada superficialmente; *c,* hilera más profunda de cuyas células sólo se distingue la zona central; *b,* fascículo tendinoso primario.

La dirección de los haces secundarios es ordinariamente rectilínea y paralela (tendones y ligamentos); sin embargo, en las apo-

neurosis los haces se cruzan superponiéndose en planos bien limitados (fig. 97).

El endotelio que reviste los haces secundarios sólo se percibe tratando en fresco por el nitrato de plata, un tendón disociado. Se comprueba así que el endotelio forma un forro completo al haz secundario y que sus células son delgadas, extensas y poligonales (fig. 96, A). En los cortes transversales de los haces aparece el endotelio como un limbo granuloso sembrado de núcleos. Por fuera de esta capa yace el tejido conectivo laxo interfascicular.



Fig. 96.—Tendón de la cola del ratón, impregnado por el nitrato de plata; A, células endoteliales; B, fila de corpúsculos tendinosos; C, materia fibrilar ennegrecida; D, línea que dibuja la cresta de impresión del protoplasma; E, un corpúsculo aislado.

Células.—Cuando se examina á lo largo un fascículo secundario de un delgado tendón (cola del ratón) se advierten en él tantas hileras de células como intervalos fasciculares contiene. Esta disposición seriada es consecuencia forzosa del paralelismo de los manojos y de los intersticios. Afocando la capa superficial del haz secundario se advierte que las células son laminares, cuadrilongas, cortadas en sus extremos por líneas rectas y unidas por un cemento que la nitración revela intensamente. La línea según la cual se limitan y tocan los extremos de las células, unas veces es transversal, otras oblicua á la dirección del eje de los haces. Aunque es común que estos corpúsculos formen rosarios ó series continuas, no es raro encontrarlas, formando familias separadas de dos ó tres individuos, dentro del mismo intersticio tendinoso. Por los lados la célula se extiende en láminas ó aletas delgadísimas, aplicadas á la superficie de los fascículos limítrofes.

El contorno de las aletas sólo vagamente se discierne en las preparaciones frescas y en las coloreadas por el carmín ó hemato-

xilina; pero si la observación recae en fascículos nitratados, dicho contorno destaca en blanco sobre fondo castaña, notándose en él varias expansiones irregulares, á menudo ramificadas, que recuerdan algo las de los corpúsculos fijos del tejido conectivo (véase la figura 96). Afocando un poco por debajo de las células, llama la atención una línea brillante, paralela á los intersticios fasciculares, que no es otra cosa que una cresta de impresión insinuada en la laguna situada por debajo (fig. 96, D).

El núcleo es redondeado, visto de frente, pero examinado en cortes transversales se muestra prismático con aristas menos pronunciadas que las protoplasmáticas. Yace con frecuencia en un extremo del protoplasma, y no es raro que toque al núcleo de la vecina célula, en cuyo caso el contorno nuclear remata al nivel del contacto por un borde recto orientado, ya perpendicular, ya oblicuamente al eje de los fascículos (fig. 95). Estos grupos ó series de células de núcleos próximos representan verosímilmente la progenie de un solo elemento conjuntivo embrionario.

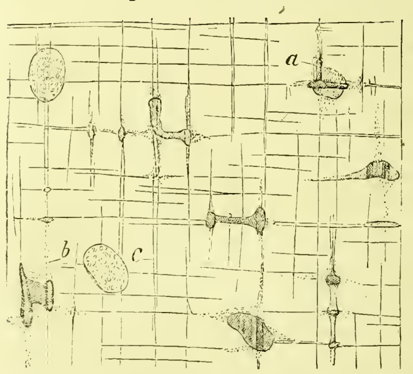


Fig. 97.—Aponeurosis femoral de la rana, extendida y teñida en fresco por el licor sódico metílico acetificado; *a*, cresta de impresión de un núcleo; *b*, expansión protoplasmática de una célula; *c*, espacio interfascicular.

Examinadas las células en los cortes transversales de un tendón, se las ve bajo la forma de estrellas de tres ó más radios, cuyo foco corresponde á los puntos de reunión de varios fascículos primarios. Estos radios, que no son otra cosa que la sección transversal de las aletas protoplasmáticas antes mencionadas, penetran en los intersticios fasciculares, donde se muestran como líneas granulosas y refringentes. En el centro de la célula se divisa el núcleo, cuya sección es, á menudo, triangular ó cuadrilátera (fig. 98, b).

Convienen especialmente los cortes transversales para el estudio de la forma de los haces primarios y sus intersticios. Se comprueba así, que los fascículos son prismáticos y que sus caras son planas ó

ligeramente curvas. Los intersticios (que representan verdaderas lagunas conjuntivas) delgados y casi invisibles en ciertos puntos, evidentes al nivel de las series celulares, rodean los fascículos, formándoles una atmósfera de plasma nutritivo. En el espesor de los haces se perciben unos puntos redondos pálidos, menos refringentes que la sustancia fascicular. Afocándolos en sus diversos planos, se echa de ver su continuación con los espacios ó lagunas interfasciculares. Es probable que sean simples divertículos de éstas, y su organización responda al fin de facilitar los cambios nutritivos en el espesor de los haces primarios.

C.—**Variedad corneal.** Es un tejido duro, elástico y tan diáfano, que cuando se le examina en fresco no revela el menor detalle. A pesar de tan extrema transparencia, que parece anunciar una estructura sencilla, la córnea es un tejido complejísimo, pues contiene células conjuntivas y epiteliales, fascículos y fibras colágenas, membranas elásticas ó basales, y numerosos nervios. Estas partes poseen diversas propiedades físico-químicas, pero su ajuste es tan exacto y tan análogo al índice de refracción de las células y la materia intersticial, que la luz atraviesa el todo sin sufrir la menor desviación. La compresión que disloca los elementos, así como la acción de ciertos reactivos (ácido acético, ósmico, sulfúrico), susceptible de dar contraste á los índices de aquéllos, prestan á la córnea cierta opacidad, resultado á que conducen igualmente los agentes coagulantes (alcohol, ácido crómico, etc.)



FIG. 98.—Corte transversal de un fascículo secundario de un tendón de la cola del ratón; *a*, membrana endotelial; *b*, núcleo; *c*, expansión protoplasmática ó aleta; *e*, intersticio fascicular.

Consta la córnea de varias capas, que son de delante á atrás: 1.ª, *el epitelio corneal anterior,* formado de varias hileras de células poliédricas; 2.ª, *la capa corneal ó conjuntiva,* de textura fibrosa; 3.ª, *la capa endotelial* ó el epitelio corneal posterior (membrana de Descemet). En el examen sumario que vamos á hacer de la córnea, prescindiremos de las partes epiteliales, y nos fijaremos exclusiva-

mente en las conjuntivas. En éstas hay que estudiar: *las láminas y haces conjuntivos, las células fijas y emigrantes, y las capas basales anterior y posterior* (fig. 99).

1.ª *Láminas.* Son delgadas membranas, en número variable, superpuestas de delante á atrás, compuestas de hacecillos conjuntivos aplanados é íntimamente unidos por sus bordes. Dentro de cada lámina, la orientación de los haces es paralela ó ligeramente oblicua; no así la dirección de éstos con relación á la de los que forman las láminas limítrofes, que es casi siempre perpendicular ó cruzada. Así, cuando se examina un corte meridiano de la córnea, se perciben zonas de haces alternativamente seccionados transversal y longitudinalmente.

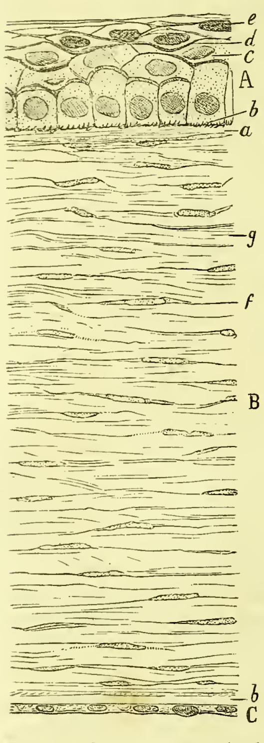


Fig. 99.—Corte antero-posterior de la córnea del hombre.
A, epitelio anterior; *e*, células superficiales; *c*, células con fosetas; *b*, pies córneos de los elementos profundos.
B, capa conjuntiva corneal *a*, basal anterior ó zona homogénea que la representa; *f*, células conectivas fijas; *g*, laminillas; *b*, basal posterior.
C, endotelio posterior de la córnea.

Las hebras que constituyen los fascículos son finísimas, y sólo difieren por su mayor higrometricidad de las ordinarias del tejido conectivo.

En ciertos animales (peces) forman los hacecillos un sistema de láminas absolutamente independientes y concéntricas, que interceptan lagunas aplanadas y extensas; pero en los mamíferos se ven emerger de la superficie de cada lámina tiras ó haces secundarios, que se insertan en ángulo agudo en las láminas inmediatas, prestando á la cavidad intercalar un aspecto cavernoso. A veces, las láminas superficiales se hacen más ó menos oblicuas é irregulares, y en vez de formar capas continuas cesan, fijándose en la zona basal anterior.

2.—*Conductos de Bohman.* Practicando en la córnea inyecciones intersticiales de aire ó de un soluto de azul de Prusia, se dibuja en ella una red estelar de mallas irregulares y

de tallos gruesos, frecuentemente visibles á la simple vista. Esta red corresponde en sus porciones anchas y estelares á los espacios interlaminares, y en sus tallos más delgados y paralelos, á los intersticios interfasciculares. Semejante reticulación no preexiste en la córnea como un sistema de canalículos plasmáticos abiertos, sino que es resultado del agrandamiento de las lagunas donde las células fijas habitan y del despegamiento sufrido por los fascículos constituyentes de cada lámina. De todas suertes, tales espacios, en lo que tienen de preexistente, representan exactamente las lagunas del tejido conjuntivo laxo.

3.—*Células fijas.* Son unos corpúsculos de gran tamaño (20 á 30 μ), de forma aplanada, con un núcleo voluminoso é irregular, que llena casi todo el cuerpo protoplasmático. Están situados en los intersticios laminares que rellenan casi exactamente. Moldéanse á los fascículos conjuntivos, ofreciendo en sus caras crestas de impresión y numerosos apéndices que se insinúan en las junturas de aquéllos (fig. 100, a). Estos apéndices son largos, ramificados en ángulo casi recto, y, á menudo, anastomosados con los de las células próximas (v. fig. 100, c). En las preparaciones frescas ó en las tratadas por el agua, los contornos celulares son poco visibles, así como las anastomosis; pero si se impregna la córnea por el nitrato de plata ó el cloruro de oro, los unos y las otras destacan con la mayor claridad. El nitrato de plata da imágenes negativas, resaltando las células por claro, sobre fondo negro ó castaño; el cloruro de oro las da positivas, mostrándose el fondo incoloro y las células de color violado intenso. La forma y tamaño de los apéndices es muy semejante en ambas preparaciones, lo mismo que en las obtenidas por otros métodos (maceración en ácido sulfúrico, fijación en ácido ósmico y coloración al carmín, etc.)



FIG. 100.—Células corneales del conejo impregnadas al cloruro de oro; *a*, cresta de impresión; *b*, núcleo diseñado por una zona central clara; *c*, apéndices del protoplasma anastomosados.

Esta semejanza de las imágenes obtenidas por varios métodos es incompatible con la hipótesis de Reclinghausen é His acerca de los *tubos plasmáticos* de la córnea. Pensaban estos histólogos que las partes que en esta membrana reserva en blanco el nitrato de plata no corresponden á las células, sino á una vasta red de conductos por donde circularían los jugos nutricios. Las células hallaríanse á distancia de las paredes de estos vasos, en medio de las nudosidades más gruesas. Semejante opinión no puede hoy sostenerse, sobre todo desde que se sabe que el nitrato de plata no reserva sino las células, tiñendo por igual ó con poquísima diferencia los plasmas, fascículos colágenos y materias amorfas. Por consiguiente, aunque tal sistema plasmático existiera, la nitratación sería impotente para evidenciarlo.

La opinión de Reclinghausen recuerda la más antigua de Virchow, hoy justamente abandonada. Este histólogo, impresionado con la disposición canaliculada de la célula ósea, y queriendo generalizarla á todas las formas de materia conjuntiva, consideraba los corpúsculos conectivos como celdillas verdaderas, cuya membrana, apartada del protoplasma, se disponía en tubos ramificados y anastomosados. Para arruinar esta concepción sistemática bastará consignar las siguientes observaciones: 1.ª, las células conectivas se muestran en todas partes macizas y sin membrana separada ni separable; 2.ª, las pretendidas membranas celulares y tubos plasmáticos corresponden en realidad á los límites de las lagunas conectivas, como puede fácilmente comprobarse examinando los cortes transversales de un tendón ó del tejido conectivo laxo.

El tamaño y forma de las células varían mucho en las diversas especies de animales. En el ratón y conejo indiano son anchas, extensas, provistas con pocas, pero gruesas prolongaciones, que cubren casi toda la materia fundamental. En la rana, conejo y mamíferos superiores, los apéndices son delgados, largos, hallándose separados por mayor cantidad de sustancia intersticial (véase la figura 101).

El modo de anastomosis de las expansiones protoplasmáticas no aparece muy claro en las preparaciones doradas ó en las tratadas por el carmín y los ácidos; mas, si se estudia en las córneas nitratadas, preferentemente en las del gato y conejo, se echa de ver que al nivel de los encuentros protoplasmáticos no hay fusión, sino simple contacto, como lo prueba la presencia de líneas de cemento, ennegrecidas por la plata (v. fig. 101, C).

4.—*Células emigrantes.* Cuando se examina una córnea fresca de rana en el humor ácueo, las células fijas no son visibles ó aparecen

vagamente; pero en cambio se advierten en todas las regiones de la trama conjuntiva unos corpúsculos irregulares, á menudo alargados, con núcleo abollado ó múltiple, dotados de contracciones amiboideas. Se los ve caminar unas veces por las lagunas, arrastrándose sobre las células fijas, otras por los intersticios interfasciculares de las láminas. Cuando recorren las lagunas son gruesos, refringentes, recordando en un todo la forma de los leucocitos sanguíneos en variación; mas cuando se enclavan en los intersticios fasciculares, son más alargados y ofrecen crestas de impresión y expansiones perpendiculares. (Ranvier).

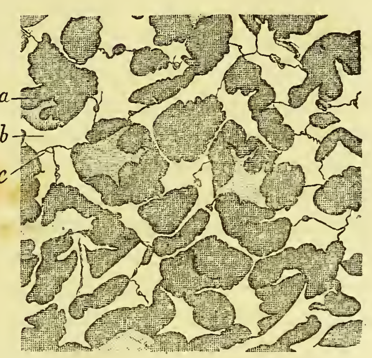


Fig. 101.—Células de la córnea del gato, impregnadas por el nitrato de plata; *a*, espacio ó fondo conjuntivo ennegrecido; *b*, células; *c*, cemento de unión entre varias.

Según Reclinghausen y Cohnheim, estos corpúsculos son leucocitos trasmigrados que, exudados de los capilares perikeráticos, pueden recorrer, merced á sus contracciones, todos los intersticios y lagunas corneales. La posibilidad de esta emigración se prueba por un notable experimento de Reclinghausen. Abandona este experimentador durante algunos días una córnea fresca de rana en el saco linfático dorsal, y encuentra, al practicar el examen, que los elementos fijos no han sufrido modificaciones notables, mientras que el número de los emigrantes ha aumentado considerablemente, hallándoselos en todas las regiones de la membrana, pero más particularmente en los bordes. Estas nuevas células provienen aquí, indudablemente, de los leucocitos que pululan en el reservorio linfático.

5.—*Membrana elástica* (fig. 99, B, b). La *elástica* ó *basal posterior* es una zona homogénea, correctamente separada del tejido corneal y endotelio, entre los que se halla colocada. Su espesor es en el hombre de 6 y $^1/_2$ á 7 μ, de 2 $^1/_2$ en el mono (cercopiteco); de 6 μ en el conejo, etc. Goza de gran elasticidad y posee particular tendencia á arrollarse hacia adelante. Carece de textura. No obstante, como ha demostrado Henle, la ebullición prolongada la descompone en

láminas finísimas, en número incontable. Resiste la elástica posterior á los ácidos y álcalis enérgicos, coloréase de rosa por el carmín, de violeta por la hematoxilina, de moreno por el ácido ósmico, etc. Estas últimas reacciones la separan de la sustancia elástica con la cual se la ha identificado por muchos.

Según todas las probabilidades, la elástica posterior es una capa basal elaborada por el epitelio posterior de la córnea, con cuyas células se enlaza íntimamente.

La elástica anterior sólo se la halla en ciertas especies inferiores. En el hombre, mono, perro, conejo, etc., no hemos podido demostrarla. Lo que en estos animales se describe como tal es una zona ó lámina corneal conjuntiva más condensada que las demás, situada detrás del epitelio corneal anterior. Según nuestras observaciones, que coinciden con las de otros histólogos, esta zona no está limitada de las demás láminas conjuntivas, ni se distingue de éstas por ninguna reacción particular.

De la cara anterior de la primera lámina corneal se ven á menudo partir unas fibras delgadas, coloreables por el carmín, que atraviesan más ó menos oblicuamente las capas corneales (fibras de sostén). Ranvier las ha visto en la córnea de la raya atravesar perpendicularmente todas los láminas, fijarse por detrás en la capa elástica posterior y continuarse por delante con la basal anterior, membrana que, por caso singular, adquiere en este animal notable desarrollo.

D.—**Variedad membranosa y reticular.** En ciertos órganos (mesenterio, epiplones, etc.), el tejido conectivo se dispone en delgadas membranas, cuyas superficies están revestidas por un endotelio. Los fascículos son flexuosos y se cruzan en todas direcciones como en la variedad laxa, pero ajustándose á un solo plano. Entre ellos quedan espacios ó mallas, llenas de materia amorfa, células conectivas y capilares.

En la pía madre, epiplon mayor, etc., los espacios que limitan los haces conectivos constituyen perforaciones de variable diámetro y configuración, y sobre el contorno de éstas el endotelio, doblando sus células pasa de una á otra superficie de la membrana. Los corpúsculos conectivos yacen unos sobre los fascículos debajo del endotelio; otros entre éstos adaptándose á sus resquicios. Abundan

las células emigrantes, preferentemente en las inmediaciones de los vasos. (Véase más adelante sistema seroso).

E.—**Variedad adenoide ó linfática.** La trama de las glándulas linfáticas y las formaciones afines (bazo, placas de Peyero, amígdalas, etc.), representa una modalidad conectiva, cuyos principales caracteres son: la delgadez excesiva de los fascículos, la disposición reticulada en estrechísimas mallas y la abundancia de células intercalares.

En los ganglios, constituye casi exclusivamente los folículos linfáticos y sus prolongaciones cilindroides medulares; análoga construcción exhiben los trabéculos limitantes de las cavernas perifoliculares. (Véase más adelante el tejido vascular). Como el conectivo laxo, consta este tejido de fascículos y células.

a.—*Fascículos.* Son tenues haces, de 2 á 3 μ de diámetro, de color pálido y neto contorno, dispuestos en red, cuyas mallas son poligonales y estrechísimas. A suficientes aumentos, descúbrese en ellos textura fibrilar, aunque las fibrillas son mucho menos perceptibles que sus análogas de los fascículos conjuntivos ordinarios, á causa probablemente de la solidez y refringencia del cemento que las traba. Examinando atentamente los puntos nodales de la red, se advierte que no hay en ellos fusión, sino entrecruzamiento de fibrillas. La malla ó espacio circuído por los trabéculos es estrecha y como lineal en las zonas superficiales del folículo, más ancha y floja en las profundas (v. fig. 102, A, b).

En la región cavernosa ó perifolicular, donde la trama es floja y limitante de los espacios por los cuales la linfa circula, existen también fascículos de análoga naturaleza. Diferénciianse, no obstante, de los foliculares, en que son más gruesos, largos y se anastomosan más raramente. Por un extremo se continúan con los de la circunferencia folicular y trayectos cilindroides medulares, y por el otro suelen implantarse en los tabiques conjuntivos del ganglio, descomponiéndose en hebrillas evidentemente abocadas y prolongadas con las componentes de los haces de aquéllos.

Cuando la observación tiene lugar en cortes ganglionares poco ó nada barridos por el pincel, aparecen, á lo largo de los fascículos y en los entrecruzamientos de éstos, ciertos núcleos redondos ó alargados, rodeados de alguna cantidad de protoplasma granuloso

incorrectamente limitado. En tal caso, los fascículos semejan simples prolongaciones de células ramificadas y anastomosadas. Esta apariencia es el fundamento de la opinión de Köliker, aceptada por muchos, respecto de la textura del tejido linfático. Según este autor, la trama folicular consiste en células asteriformes, anastomosadas en tupida red, cuyas mallas encierran los corpúsculos linfáticos. Mas



Fig. 102.—Tejido reticulado de un folículo de un ganglio linfático del buey.—Alcohol al tercio.—Goma y alcohol.—Pincelamiento de los cortes.—*a*, núcleo de una célula conectiva superpuesta á un fascículo; *b*, entrecruzamiento de varios haces; *c*, pedazo de capilar sanguíneo; *d*, corpúsculo linfático en proliferación; *e*, células linfáticas enanas.

B. Células linfáticas de un ganglio de conejo indiano, disociadas en el licor sódico metílico; *a*, célula nuclear con escasísimo protoplasma; *b*, hematie; *c* y *d*, corpúsculos linfáticos con ligero limbo hialino; *e* y *f*, células hialinas en kariokinesis; *g* y *h*, grandes células hialinas; *i*, célula conjuntiva?; *j*, leucocito.

C. Los mismos elementos en el perro joven; *a*, célula enana; *c* y *d*, hialinas grandes; *b*, célula de transición.

si los cortes se barren y descombran de todos sus corpúsculos intercalares, mediante la acción prolongada del pincel, los núcleos de la red fascicular desaparecen, hecho que demuestra que tales elementos están yuxtapuestos y no soldados á la red. Esta situación

periférica de los núcleos se evidencia también examinando, con ayuda de fuertes objetivos, secciones de ganglios poco pincelados.

b.—*Células* (fig. 102, B). Son de forma y tamaño varios y pueden compararse á las sedentarias y errantes del tejido conectivo. Las *fijas* son corpúsculos aplanados, de contorno irregular, con superficies frecuentemente accidentadas por crestas de impresión y apéndices protoplasmáticos. Hállanse unas veces superpuestas en el trayecto de un fascículo, otras echadas sobre los puntos nodales simulando una figura estelar. Las *emigrantes* aparecen bajo diversos tipos y gozan probablemente de diversas propiedades. Las principales formas son: 1.ª, *células hialinas grandes,* elementos esféricos ó esferoidales, de 9 á 12 μ (conejillo de Indias), de núcleo único, voluminoso, esférico y á menudo en vías de proliferación kariokinética. Su protoplasma es incoloro, correctamente limitado, casi tan hialino como el de las células rojas de Neuman, y posee especial afinidad por el violeta de metilo (empleo del licor sódico-metílico). El agua y los ácidos revelan en su contorno una delgada cubierta. Con frecuencia, el núcleo es excéntrico, y el cuerpo celular acumulado en un punto encierra tres ó más gruesos granos incolorables por las anilinas y fuertemente refringentes (fig. 102, e, f, g). 2.ª, *células enanas.* Son los corpúsculos más abundantes en los ganglios. Su forma es esférica; su diámetro oscila entre 3 y 5 μ, y su protoplasma es tan escaso, que á primera vista parecen núcleos independientes. Con un buen objetivo y después de tratados por el agua acidulada, presentan una delgada película perinuclear (membrana celular) y un limbo claro por debajo (protoplasma). Entre estos elementos y los de la anterior variedad se notan todas las formas intermedias, es decir, células con progresiva cantidad de protoplasma hialino, colorable por el violado de metilo. Así que cabría suponer, y esta opinión parece muy probable, que los corpúsculos enanos son las formas embrionarias de las grandes ó hialinas. Con todo, es preciso consignar también que no es raro hallar elementos enanos en vía de escisión directa, así como células hialinas grandes en curso de kariokinesis. 3.ª, *células análogas á leucocitos,* uni ó polinucleares. La escasez de estos elementos, y la inconstancia con que se les halla en los productos de disociación de los folículos, parecen mostrar que no forman parte integrante de éstos, sino que proceden de la linfa cir-

culante por los espacios cavernosos. Mencionemos aún, para ser completos, la existencia de pequeñísimos corpúsculos, de 2 á 3 μ, de aspecto hialino, incoloros y algo análogos á las plaquetas; y la de ciertos elementos voluminosos, de protoplasma abundante y desigualmente contorneado, que aloja un núcleo esférico, reniforme ó abollado, caracterizado por la laxitud y pobreza de la red cromatica (fig. 102, i).

6.—**Propiedades químicas del tejido conectivo.**—A. *Células.* Los corpúsculos conjuntivos no discrepan en cuanto á su composición de los demás elementos orgánicos. No obstante, ciertos corpúsculos (los pigmentarios) encierran granos morenos ó amarillos *(melanina)* que palidecen por el agua oxigenada y se destruyen por los ácidos nítrico y clorhídrico. Las células plasmáticas contienen gotitas grasientas y una sustancia granulosa colorable por las anilinas.

B.—*Materia fundamental.* En el tejido conectivo embrionario la ganga intercelular es semilíquida y carece de materia colágena. Su naturaleza difiere poco del plasma linfático circulante por los intersticios orgánicos. Más adelante, la sustancia intersticial contendrá *mucina,* producto de consistencia siruposa, incoagulable por el calor, pero coagulable por el alcohol y ácido acético. Cuando los fascículos conjuntivos aparecen, surge una nueva materia, la *colágena,* susceptible de dar jalea por la cocción (v. Estequiología). Las fibras elásticas contienen la *elastina,* principio insoluble en los ácidos y álcalis, irreductible por la cocción, y al cual deben las fibras elásticas su extrema resistencia química. Las fibras elásticas digiérense por la *tripsina* que no altera las conjuntivas. La *pepsina,* unida al ácido hidroclórico diluído, actuando bajo una temperatura de 40° determina en las fibras elásticas un principio de disolución revelado por la aparición de unos granos claros, elipsoides, transversalmente dirigidos. Pfeuffer, á quien se deben estas experiencias, afirma que las fibras elásticas se componen de granos de una materia resistente, unidos por una ganga fácilmente atacable por los líquidos digestivos. Ranvier describe también ciertos corpúsculos esferoidales que aparecerían en las fibras elásticas después de larga maceración en el ácido ósmico. Por nuestra parte no hemos podido comprobar

esta disposición estructural, ni después de tratadas las fibras por el ácido ósmico, ni bajo la acción de los agentes colorantes.

7.—**Propiedades fisiológicas.** La actividad vital del tejido conectivo reside exclusivamente en sus células: los fascículos y fibrillas constituyen simple ganga de sostén, y son útiles no más al organismo por sus propiedades físicas, por ejemplo: la elasticidad, extensibilidad y su poder de imbibición. El principal papel que desempeña la trama fascicular es absorber los líquidos nutritivos y el oxígeno para trasladarlos por difusión á todos los tejidos con quienes se asocia. Bajo este aspecto, cada célula muscular, nerviosa, glandular, conjuntiva, etc., puede decirse que habita dentro de una esponja saturada del medio nutrimenticio derramado por los capilares sanguíneos.

El tejido conectivo es poco vascular, si se considera que sus formaciones más puras (tendones, ligamentos, córnea, etc.), ó carecen de vasos ó los poseen escasísimos. Pero si se tiene en cuenta que todo capilar, cualquiera que sea el tejido donde se consuma, lleva consigo una atmósfera conectiva de sostén, parecerá natural la afirmación de que el tejido conectivo no sólo es vascular, sino el único tejido vascular de la economía. Las mismas mallas de que se forma, ¿qué son sino vasos imperfectos por donde corre la savia no canaliculada del organismo? La única diferencia consiste en que, en los vasos, las células conectivas juntan sus bordes construyendo un endotelio continuo, en tanto que en las lagunas interfasciculares los corpúsculos yacen apartados, engendrando un endotelio discontinuo. Semejante disposición debe estimarse como la representación de la circulación interorgánica no canaliculada del embrión y de los animales inferiores (insectos, anelidos, etc.)

Ignórase cuál es la especial actividad de las células fijas del tejido conectivo, si bien parece probable que desempeñen el papel de segregar la materia amorfa donde secundariamente se forman los fascículos colágenos y fibras elásticas. La misma incertidumbre reina respecto á las propiedades fisiológicas de los corpúsculos emigrantes. Su ubicuidad y contractilidad amiboide hacen verosímil la opinión de que, por lo menos en parte, emigran á los vasos linfáticos para constituir los leucocitos.

Si las células conectivas gozan de poca actividad en estado

fisiológico, no así en el patológico, con ocasión, por ejemplo, de flegmasía ó de neoplasia. La patología experimental ha demostrado que casi todas las neoformaciones anormales radican en el tejido conectivo, y que el pus y demás células jóvenes de los tejidos flogoseados dimanan en gran parte de los corpúsculos conjuntivos.

Aparte de este papel de regeneración y formación patológica, que en el más alto grado desempeña el corpúsculo conectivo, posee otra singular actividad puesta en claro por los estudios microbiológicos. En cuanto un germen patógeno penetra en el organismo, las células conectivas le salen al paso, le cercan en círculo de proliferación y lo destruyen por englobamiento protoplasmático y digestión subsiguiente. Cuando se trata de cuerpos extraños solubles, pequeños ó fácilmente fragmentables, acaece lo mismo. Así, practicada en la córnea una inyección de pequeña cantidad de un líquido que contenga carbón en polvo impalpable, se advierte que muchos corpúsculos emigrantes, y aun algunas células fijas de la misma engloban dichas partículas, limpiando, por decirlo así, de cuerpos extraños el territorio corneal. Análogo fenómeno se comprueba en el tejido conectivo, después de inyecciones de microbios poco virulentos. Esta especie de lucha entablada entre las células y los gérmenes no siempre termina por la victoria de aquéllas. Así, pocas veces puede detener la marcha invasora del bacilo de la tuberculosis el poder englobante y digestivo de la célula gigante, como es igualmente inútil á menudo la destrucción y englobamiento de los gérmenes del bacilo de la lepra, pneumonía, gonorrea, etc. La causa de estas decepciones estriba en la desproporción de los movimientos proliferativos de las células y los microbios, los cuales, si el terreno les es favorable (virulencia), procrean con una rapidez infinitamente mayor que aquéllas.

Esta función microbicida es la misma que Bordoni, con excesivo exclusivismo, atribuye á los leucocitos (teoría de los *fagocitos)*.

8.—**Génesis del tejido conjuntivo**. El mesodermo, hoja germinal donde se engendran todos los tejidos conectivos, se caracteriza por ofrecer células esféricas, pequeñas, de escaso protoplasma, separadas por una ganga poco abundante de un líquido que lleva en disolución materias albuminoides. Á medida que los órganos mesodérmicos aparecen (notocorda, protovértebras, vasos, etc.), las células que andando el tiempo formarán los tejidos conectivos, se modifican, aumentan en estatura, truecan la forma redondeada ó poliédrica por la estelar ó fusiforme (células fibroplásticas), acreciéndose paralelamente la sustancia hialina intercelular.

a.—*Tejido de la notocorda.* Es la formación conjuntiva más precoz. Persistente en muchos animales, atrófiase en los mamíferos durante los últimos meses de la vida fetal, quedando apenas algunos restos en el centro de los discos intervertebrales. Aparece la notocorda en el pollo de las treinta á las cuarenta horas de incubación, bajo la forma de un cordón bien limitado, situado debajo y paralelamente al canal primitivo. Compónenle células pequeñas (de 8 á 11 μ) de núcleo esférico y relativamente voluminoso, y yacen tan apretadas, que apenas si son perceptibles sus contornos. En los embriones de varios días los elementos notocórdicos adquieren nuevo aspecto; el protoplasma crece al paso que se llena de una materia líquida, hialina é incolora. En este estado la estatura de las células se hace enorme (de 20 á 30 μ en el embrión de pollo de 6 días); el protoplasma, reducido á delgada película, es rechazado hacia la periferia, donde se pone en íntimo contacto con las células vecinas; el núcleo elíptico ocupa una posición excéntrica, casi tangencial; la materia fundamental es tan escasa, que las membranas parecen soldadas entre sí y las células semejan un epitelio poliédrico.

En las larvas de *tritón, salamandra, pleurodelo,* etc., la notocorda exhibe análogos caracteres, sólo que las células alcanzan mayor estatura (50 á 60 μ en el *pleur. W.)* y los contornos exteriores de las cubiertas son mucho más perceptibles, especialmente en los parajes donde concurren varios ángulos celulares.

La notocorda, llegada á la plenitud de su desarrollo, se envuelve en una membrana hialina, tingible por el carmín. Su espesor es de 1 á 3 μ en el embrión de pollo y de 8 á 12 en las larvas de urodelo.

b.—*Tejido mucoso.* Representa un grado más avanzado en la evolución del tejido conectivo primario. Ocupa al principio el paraje donde se constituirán los cartílagos, los tendones, el tejido celular subcutáneo, el intermuscular, etc. Después del nacimiento sólo subsiste, aunque incompletamente, en el humor vítreo. El tejido conectivo de las larvas de batráceo y el de muchos invertebrados (cefalópodos, etc.), corresponde también á esta variedad. Las células son fusiformes, á menudo estrelladas, con radios ramificados y anastomosados, ya entre sí, ya con los de los vecinos protoplasmas. El

núcleo ocupa casi todo el cuerpo celular y ofrece forma sumamente variable. Entre las células se aloja la materia fundamental, hialina, semilíquida, continente de gran cantidad de *mucina*. En ella se encuentran algunos elementos más pequeños, redondeados, semejantes á leucocitos.

c.—*Tejido del cordón umbilical*. Puede estimarse como una metamórfosis más avanzada de la variedad mucosa. En los primeros meses de la vida embrionaria, el tejido del cordón en nada difiere de la forma anteriormente descrita; pero desde el tercero ó cuarto mes en adelante surge una modificación interesante de la materia fundamental: las células fusiformes ó estelares ramificadas y anastomosadas, no yacen ahora libremente en la ganga de mucina, sino que están englobadas en una masa de fascículos conjuntivos. En el centro de las mallas, limitadas por los haces, se observan todavía espacios claros que encierran mucina y algún corpúsculo emigrante.

d.—*Formación de las variedades laxa y tendinosa*. Cuando se observa el tejido conectivo subcutáneo de un feto de cuatro ó cinco meses, se advierte en él una gran riqueza de células, comparativamente con la sustancia intersticial. Aquéllas son en su mayor parte fusiformes, con un cuerpo elipsoide, abultado por núcleo voluminoso y con dos expansiones polares terminadas en punta. Hállanse también células estelares con apéndices numerosos más ó menos ramificados. No es raro encontrar expansiones protoplasmáticas largas y delgadas, que semejan filamentos conectivos.

La materia fundamental aparece surcada en todas direcciones por finas hebras y fascículos colágenos. Estos son de un diámetro vario, y ofrecen ya las afinidades químicas y el aspecto estriado á lo largo propio de los haces conectivos adultos. En ningún caso se continúan los fascículos ó fibras conjuntivas con las células. Cuando se da esta apariencia de continuación, un afocamiento con lentes poderosas permite observar que los cuerpos celulares están simplemente superpuestos ó adheridos, mas nunca confundidos con los haces conjuntivos. Por otra parte, el aspecto óptico de éstos es distinto del de las expansiones celulares. Son éstas granulosas y turbias; aquéllos pálidos y fibrilares. El carminato de amoníaco tiñe en naranja el protoplasma y en rosa pálido los hilos colágenos. La

eosina y el yodo que coloran aquél, apenas si tiñen éstos perceptiblemente.

Las fibras elásticas se presentarán más adelante engendrándose por igual mecanismo que las colágenas, es decir, por una especie de cristalización fibrilar recaída en la materia amorfa semilíquida, sin el concurso directo del protoplasma.

La evolución conjuntiva se completa por el espesamiento de los haces que acarrea la angostura, cada vez mayor, de las lagunas, y el adelgazamiento y moldeamiento de las células que las ocupan. A pesar de estas metamórfosis, las células fijas conservarán en el estado adulto sus apéndices y, á veces, sus anastómosis.

Del propio modo se realiza el proceso en el tendón embrionario. Entre las células, en su mayoría fusiformes y ordenadas en series, aparecen los fascículos largos y paralelos. El crecimiento subsiguiente de éstos estrecha los espacios longitudinales, obligando á la célula á vaciarse y como á desparramarse por las junturas interfasciculares. De aquí la forma laminar adelgazada y las aletas divergentes características de las células adultas.

Los elementos conectivos se multiplican por división de las células preexistentes. El fenómeno de la partición es evidentisimo en los corpúsculos tendinosos de la cola del ratón, donde se ven series de dos ó más elementos con señales de reciente generación. En el tejido laxo adulto, se presentan también con frecuencia corpúsculos fijos con dos núcleos y aun con señales de *kariokinesis*. Por lo demás, nada más fácil que observar la división *cinética* en las larvas de urodelo. Nosotros la hemos estudiado particularmente en el tejido conectivo de las expansiones de la cola del *pleurodelo Waltii*. La *cinesis* en los corpúsculos conjuntivos de los mamíferos es más difícil de observar. Con todo, es comprobable en los tejidos de animales jóvenes, y especialmente en el epiplon mayor del gato, perro y conejo recién nacidos. Observando estas membranas con un objetivo de inmersión, se ven algunas células poligonales, redondeadas ó fusiformes, de protoplasma algo tingible por las anilinas, que encierran un núcleo voluminoso, casi siempre en curso de división indirecta. Las fases coinciden con las descritas por Flemming en la *salamandra;* sólo es de notar que en los estadios de *estrella madre, hijas y ovillos hijos,* los hilos cromáticos son extremadamente cortos,

y como coalescentes por sus extremos. Esta fusión es, sobre todo, notable en la fase que precede al *ovillo hijo.*

El origen de los haces colágenos del tejido conectivo es asunto sobre el cual no existe unanimidad de pareceres entre los histólogos.

Schwann (*Microscopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Structur und dem Wachsthum der Thiere und der Pflanzen,* 1839), supuso que las células fusiformes, por suerte de un crecimiento desmesurado, y á consecuencia de la fibrilación paralela del protoplasma, daban origen á los fascículos conjuntivos. En tal hipótesis una sola célula engendra un fascículo, circunstancia que separa la opinión de Schwann de la de Valentin *(Artikel Gewebe, R. Wagner's Handwörterbuch der Physiologie,* 1842), para quien cada fibrilla del haz se constituye por el estiramiento de una célula, y de la de Morel *(Traité d' histologie humaine,* etc., 1879), que estima cada fascículo formado por la fibrilación y fusión de una serie ó cordon de células conjuntivas. F. Boll *(Untersuchungen ueber den Bau und die Entwickelung der Gewebe* 1871), defiende todavía la opinión de Schwann y con leves variantes la aceptan Beale *(Protoplam or matter and life.* 1874), V. Krause *(Allgemeine und microscopische Anatomie,* 1876), Klein, *Nouveaux éléments d' histologie, tr. par Variot.* 1885), Brass. *(Kurzes Lehrbuch des Normalen Histologie des Menschen, etcétera,* 1885), etc., etc.

Enfrente de los partidarios del origen celular directo de los haces, figuran histólogos como Henle *(Allgemeine Anatomie,* 1841), Donders *(Form, Mischung und Function der elementären Gewebetheile, etc.* Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie, 1851. t. III) Virchow *(Ueber die Identität von Knochen, Knorpel undBindegewebskörperchen, etc.* Würzburger medicin. Verhandl, 1852). Köliker *(Neue Untersuchungen über die Entwickelung der Gewebe,* 1871). Ranvier *(Traité technique d' histologie)* etc., etc., quienes afirman que los fascículos se engendran libremente en el seno de la materia amorfa. Apoyan esta opinión en el hecho, fácil de comprobar, de la aparición de haces colágenos completamente formados en la sustancia amorfa del cartílago, aparición que tiene lugar no cerca de las células, sino precisamente en los territorios más lejanos del protoplasma; y en la observación del tejido conectivo embrionario donde jamás se perciben células continuadas sustancialmente con las hebras colágenas.

9.—**Preparación del tejido conjuntivo.**—a. *Tejido conectivo laxo.* El mejor método de demostración consiste en examinar un trozo de la bola de edema determinada en el tejido conjuntivo subcutáneo de un animal (perro, conejo, conejillo indiano, etc.), mediante la inyección de un líquido colorado é indiferente. El agente que nosotros utilizamos con este objeto es el líquido

salino indiferente (sal al 0'75 por 100), en donde se han disuelto, hasta obtener un color intenso, algunos trozos de violado de metilo. Este licor, que no altera en lo más mínimo las células, presta al protoplasma color violeta claro, colora en violado intenso los núcleos y fibras elásticas, y tiñe apenas los fascículos conectivos. La observación debe efectuarse en el mismo vehículo inyectado, pues la glicerina roba el color del preparado, dándole demasiada transparencia.

Á fin de ejecutar preparaciones definitivas, podrán ensayarse las inyecciones de ácido ósmico ó nitrato de plata. Las del nitrato (al 1 por 300 ó 500), evidencian con toda corrección los límites protoplasmáticos y los fasciculares, pudiendo teñirse los núcleos subsiguientemente con el picrocarminato ó hematoxilina; pero tienen el inconveniente de retraer las expansiones celulares y de sembrar la preparación de precipitaciones argénticas negras.

Por esto preferimos nosotros la fijación al ácido ósmico. El proceder consiste en inyectar en el tejido subcutáneo de un perro, conejo ó conejillo indiano, una solución de aquel agente al 1 por 190. De la infiltración edematosa resultante, se toma una pequeña porción con las tijeras y se coloca sobre un porta-objetos. Acto continuo se lubrifica el preparado con picrocarminato ó hematoxilina y se cubre con una laminilla. Á las veinticuatro horas de coloración (ésta se efectuará en cámara húmeda), se deslizará suavemente el cubre-objetos y se depositará en el tejido una gota de glicerina.

Para demostrar las relaciones de las células con los haces, nada mejor que las inyecciones intersticiales de gelatina picrocarminada. Los trozos de tejido penetrados por la gelatina se endurecen en el alcohol y se seccionan al micrótomo. Al examen se ven casi todas las células pegadas á los fascículos, y se comprueba que sólo las emigrantes yacen en las lagunas. Un método menos exacto, pero también convincente, es el aconsejado por Ranvier: trozos de piel de párpado, labio, etc., son endurecidos en el alcohol primero, luego en la goma y el alcohol (la celoidina podrá sustituir con ventaja á la goma como medio de inclusión). Los cortes, una vez desembarazados de la goma por permanencia de algunas horas en el agua, y teñidos al picrocarminato ó hematoxilina, mostrarán en la glicerina las células sobre los fascículos, éstos teñidos de rosa pálido, aquéllas de color rojizo anaranjado.

La demostración de las fibras elásticas y de las fibras anulares de los haces se efectuará con la mayor facilidad en los preparados teñidos al carmín, sometiéndolos por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas á la acción de glicerina que contenga uno por ciento de ácido acético. Aparentemente las fibras anulares, que se presentan también muchas veces en espiral, se tiñen por el carmín bajo la acción de los ácidos. Pero un examen atento, practicado con el ob. $\frac{1}{18}$ Zeiss y aparato *Abbe* sin diafragma, permite reconocer que el color

reside por debajo de las fibras, y resulta de la condensación sufrida por el fascículo al nivel de aquéllas. Donde la estrangulación es nula ó poco aparente, las fibras se muestran siempre incoloras.

b.—*Tejido tendinoso.* La simple disociación de un trozo de tendón de la cola del ratón ó de los dedos de la rana en un escipiente inofensivo (licor sódico metílico) nos dará ya idea clara de la forma, situación y conexiones de las células y fascículos. El desprendimiento de los tendoncitos de la cola del ratón es una maniobra que conviene detallar. Despellejada la cola, aparecerán á la vista las vértebras caudales, sus intersticios y las fajas tendinosas nacaradas que las envuelven. Córtense, al nivel de una articulación vertebral, todas las partes blandas, excepto uno de los tendones. Tomando los dos extremos de la cola, se estirará el puente fibroso susodicho, y se verá que se prolonga enormemente, descomponiéndose en finísimos haces. Estos son los haces primarios, que se recogerán en porta-objetos, se fijarán al alcohol, se teñirán á la hematoxilina y conservarán en glicerina.

Para completar nuestros informes sobre la trama tendinosa, es preciso ejecutar cortes transversales. La induración previa de un tendón en el alcohol, y subsiguientemente en la goma ó celoidina, consentirán la ejecución de cortes suficientemente finos para el examen, los que se tratarán por los procederes ordinarios de coloración y conservación.

El endotelio sólo se percibe bien impregnando fascículos frescos de tendón disociado por el nitrato de plata al 1 por 300 ó 500. Los tendones de la cola del ratón son muy favorables al objeto (véase *impreg. argéntica,* pág. 81).

En el estudio de las aponeurosis elegiremos la femoral de la rana, que es sumamente delgada y transparente. Un examen provechoso podrá hacerse ya en fresco, tiñendo la membrana, estirada por semidesecación, con una gota de una solución de verde ó violeta de metilo acetificados. Los núcleos se tiñen admirablemente revelándose con sus crestas de impresión y resaltando sobre un fondo casi incoloro. La fijación de la aponeurosis fresca y extendida con alcohol absoluto, su coloración al carmín ó hematoxilina y su conservación en glicerina acetificada, nos proporcionarán preparados definitivos.

c.—*Córnea.* Para comenzar el estudio de la córnea convendrá el examen de cortes antero-posteriores, sumamente delgados, teñidos al carmín y obtenidos por endurecimiento en goma y alcohol. Las túnicas epiteliales aparecerán anaranjadas, de rosa claro las láminas y elástica posterior, granulosos y pálidos los protoplasmas, rojos los núcleos. Los fascículos conectivos no se perciben bien sino por disociación de la córnea endurecida en ácido crómico, ósmico ó bicromato de potasa. En cuanto á las células, conviene examinarlas de plano, previa coloración ó impregnación. Los resultados más correctos se obtienen con el nitrato de plata y cloruro de oro. La nitratación se efectúa

pasando rápidamente un lápiz de nitrato de plata sobre la córnea viva en situación normal. Lavada y desprendida ésta, se expondrá á la luz en un poco de agua acética, á fin de que el epitelio se reblandezca y pueda después fácilmente desprenderse. Si la nitratación sale bien, deben mostrarse las células blancas sobre fondo castaña. Otro método, quizás más seguro, consiste en refrescar con un corte tangencial una córnea de mamífero, tratándola, acto continuo, con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La acción subsiguiente de la luz, en agua ó glicerina, revelará las células con todos sus detalles, incluso el núcleo que, aunque incoloro, será perceptible si el examen se verifica en el agua.

El cloruro de oro produce imágenes tanto ó más demostrativas. El método que mejores resultados nos ha dado es el de Conheim: inmersión de la córnea fresca en solución de cloruro de oro al 0'5 por 100 hasta que adquiera color amarillo de paja; lavado subsiguiente y reducción al sol en agua con algunas gotas de ácido acético, hasta que la pieza tome color violeta intenso; induración al alcohol y ejecución de cortes ya paralelos, ya antero-posteriores. En éstos cabrá observar, aparte de las células teñidas de violeta intenso, las terminaciones nerviosas epiteliales.

La conservación de todos estos preparados tendrá lugar en glicerina. Se comprenderá que cuando se trate de córneas delgadas (rana) cabrá conservarlas enteras; pero en siendo algo gruesas (conejo, perro, etc.), será preciso reducirlas á cortes.

d.—*Tejido citógeno.* Sus células se estudiarán disociando un trozo de folículo linfático en el licor salino de Bizzozero (sódico-metílico). Para conservar estas células, se tratarán, disociadas en fresco, por el alcohol, luego por la hematoxilina y eosina, montándolas en glicerina.

La trama conjuntiva convendrá estudiarla en ganglios voluminosos (vaca, carnero, perro). Para ello, se maceran trozos de ganglio en alcohol al tercio por veinticuatro horas, luego en goma pícrica por otro tanto tiempo, y, por último, se induran en alcohol durante cuarenta y ocho ó más horas. Los cortes obtenidos al microtomo serán recogidos en agua destilada, y, mientras se desgoman, se barren cuidadosamente con la punta de un pincel firme. Cuando el corte haya adquirido gran transparencia y el aspecto de un encaje, se le recoge en porta-objetos, se tiñe al picrocarminato y se conserva en glicerina. Si el pincel ha obrado suficientemente, los fascículos de los folículos y espacios perifoliculares aparecerán limpios de células, y todos los detalles de éstos se descubrirán con la mayor facilidad.

CAPÍTULO IX

TEJIDO ADIPOSO

1.—**Def.** Es un tejido caracterizado por células de gran tamaño, esféricas ó poliédricas, llenas de una ó varias gotas de grasas neutras.

2.—**Div.** Existen dos variedades de tejido adiposo: el *adiposo común* y el *medular de los huesos.*

ADIPOSO COMÚN

3.—**Distribución y caracteres físicos.** Las células grasientas se asocian formando lobulillos, de forma esferoidal ó poliédrica, separados por tejido conectivo laxo. Estos lóbulos rellenan los espacios que median entre las vísceras, repliegues serosos, músculos, etc., y yacen especialmente bajo la piel, donde constituyen una almohadilla, en general más espesa, al nivel de las depresiones.

El tejido grasiento es amarillento; su consistencia semisólida durante la vida, aumenta después de la muerte á consecuencia de la solidificación de la estearina que contiene; su peso específico es de 0'927, por lo cual flota en el agua; es mal conductor del calórico y eminentemente elástico.

4.—**Caracteres micrográficos.** Los elementos adiposos aparecen al microscopio como vesículas transparentes de gran tamaño (de 20 á 120 μ) contorneadas por una línea oscura correctamente cortada. Este contorno se presenta tanto más negro cuanto menos índice de refracción posee el vehículo en que el examen se practica.

La *forma* de estos corpúsculos es esférica si se hallan distantes unos de otros; pero cuando se tocan, aparecen deformados y con una figura poliédrica (fig. 103).

A primera vista y en las preparaciones no teñidas, los elementos grasientos se muestran como simples gotas de grasa, sin ninguna de las partes características de la célula. Para que el protoplasma, el núcleo y la cubierta sean perceptibles, es preciso tratar las células por el carmín y luego por el ácido acético. Aun así, á fin de que estos detalles se disciernan con claridad, conviene observar elementos adiposos jóvenes que son más ricos en protoplasma que los avejentados y adultos (fig. 104).

El *nucleo* es pequeño (de 3 á 5 μ) redondeado ó elíptico, aplastado, cóncavo por su cara interna que se relaciona con la gota grasienta, convexo por su externa por donde toca á la cubierta. Su red cromática es muy aparente en las células jóvenes, y exhibe á menudo un nucleolo grueso y esférico incolorable por los reactivos de la cromatina. Para percibir bien el núcleo es preciso afocar una célula donde se muestre periférico, ó sea en el contorno mismo. Entonces se nota que aquél no sólo está en la periferia, sino que sobresale de la circunferencia de la célula como la córnea de la esclerótica.

Fig. 103.—Lobulillos adiposos del tejido subcutáneo del perro de pocos días.—Examen en el licor sódico-metílico; *a*, fascículo conectivo; *b*, célula emigrante; *c*, célula fija; *e*, cristales de margarina dentro de una célula.

El *protoplasma*, abundante en los elementos jóvenes, constituye en los adultos delgadísima película granulosa situada debajo de la cubierta, sólo bien perceptible, por su mayor espesor, en la vecindad del núcleo (fig. 104, c).

La *membrana* es casi invisible en las preparaciones ordinarias. Para demostrarla se tratarán las células por el alcohol hirviendo ó por el éter, la bencina, etc.; estos reactivos disuelven la grasa, pero no la cubierta que, arrugada y vacía, se pone en evidencia. En las células jóvenes cabe despegar la membrana por simple endosmosis del agua, haciendo actuar sobre ellas una gota de agua metilada

acetificada. La expresada membrana es tenuísima, hialina, perfectamente elástica (fig. 104, a).

La *grasa,* contenida en el protoplasma, es transparente, hialina y ligerísimamente amarillenta. En los corpúsculos adultos forma una sola gota que llena casi todo el cuerpo célular; en los jovenes pueden presentarse dos ó más gotas de tamaños varios. En las preparaciones tratadas por el alcohol, muestra con frecuencia la grasa unos cristales en largas agujas, dispuestas en estrella. Tales cristales, impropiamente llamados de *margarina,* son una mezcla de *estearina* y *palmitina* (fig. 103, e).

Entre las células grasientas, por aproximadas que se hallen, yacen fascículos de tejido conjuntivo dispuestos en delicadísima malla, así como corpúsculos conectivos y fibras elásticas. Mencionemos aún la existencia de redes capilares tan apretadas y ricas que puede decirse que cada célula está envuelta en una ó varias asas vasculares.

TEJIDO MEDULAR DE LOS HUESOS

1.° **Def.** Es una modalidad de tejido adiposo, donde además del retículo conectivo y corpúsculos grasientos se contienen cuatro elementos característicos: las *mieloplaxias,* los *osteoclastos,* los *meduloceles* y los *rojos ó de Neumann.*

2.° **Distribución y caracteres físicos.** Existen dos variedades macroscópicas de médula: *la roja ó fetal* y *la amarillenta ó grasienta.* La primera es blanda, pesada, de color rojo oscuro, y yace en las areolas de los huesos anchos, cortos y epífisis de los largos. La segunda es blanco-amarillenta, de menos peso específico, está formada en gran parte por células adiposas y constituye el tuétano ó médula de las diáfisis de los huesos largos.

En los animales jóvenes, sobre todo en los recién nacidos, toda la médula pertenece á la variedad roja; sólo más adelante comenzará la diferenciación en médula hematopoyética ó roja y en médula grasienta.

3.° **Caracteres micrográficos.** *a.—Mieloplaxias.* Corpúsculos de gran tamaño (de 20 á 60 μ), de forma esferoidal ó poliédrica, cuya característica consiste en la figura variable y singular del núcleo.

Es este un cuerpo grueso, irregular, de 15 á 30 μ de diámetro, situado ya en el centro, ya en la periferia del protoplasma, y que encierra una red laxa de nucleína limitada por una membrana cromática. De su superficie brotan gibas ó expansiones más ó menos complejas que le prestan las más extrañas formas. Estas pueden reducirse á las siguientes: 1.ª, núcleo grueso, casi redondeado, con ligeras abolladuras; 2.ª, núcleo delgado y largo, pero encorvado en C ó en herradura, con extremos abultados, y á veces festoneados; 3.ª, núcleo en O por enlace y fusión de los extremos de la C. 4.ª, en forma de foseta ó de cesta con rebordes irregulares; 5.ª, núcleo en forma de bizcocho con puente delgado; 6.ª, núcleo segmentado: en esta variedad, al lado de un núcleo abollado más ó menos complejo, yacen otros completamente individualizados. Bajo el punto de vista de la red cromática se ven diferencias de consideración. Casi todas las células poseen núcleos cuyos hilos cromáticos forman red delgada, laxa, con espacios claros bien perceptibles; pero se dan células cuyos núcleos más pequeños y excesivamente refringentes, exhiben una red espesa que forma casi una masa homogénea, enérgicamente tingible por los reactivos de la cromatina.

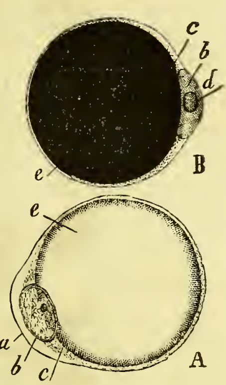


Fig. 104.—A, célula adiposa del perro joven tratada por el licor sódico-metílico acetificado; *a*, cubierta; *b*, núcleo; *c*, protoplasma; *e*, grasa.—B, célula tratada por el ácido ósmico; *c*, protoplasma; *b*, núcleo; *d*, nucleolo; *e*, grasa.

El protoplasma es abundante, incoloro, granuloso á débiles aumentos, fibrilar con buenos objetos de inmersión. Estas fibrillas forman un plexo apretadísimo, cuyas mallas suelen ser en parte concéntricas al núcleo. En medio de estos espacios interfilares yace un enquilema homogéneo y transparente. A veces el protoplasma se prolonga en apéndices, que se insinúan entre los elementos próximos. (fig. 105. b).

La membrana es muy aparente en las preparaciones frescas teñidas al verde metileno ácido. Como en los leucocitos, se la ve despegarse del protoplasma formando grandes abolladuras por causa de la penetración del reactivo. Pequeños hilos y puntas, no

del todo desprendidas, mantienen la adherencia de la membrana al protoplasma; de ahí un cierto aspecto festoneado del espacio accidentalmente abierto debajo de la cubierta.

Las mieloplaxias están sembradas irregularmente en el seno de la materia medular. Unas veces son erráticas, otras están reunidas



Fig. 105.—Médula ósea del gato de pocos días: *a*, osteoclasto; *b*, mieloplaxia; *c*, mieloplaxia pequeña; *d*, *e*, *f*, *g*, meduloceles de varias formas y tamaños; *h*, *i*, *j*, *k*, células rojas de Neumann coloradas por la hemoglobina; *l*, *m*, *n*, *o*, células semihialinas poco ó nada teñidas por la hemoglobina y en vías de kariokinesis; de ellas, *n* representa la fase de asas ó hilos doblados, *m*, la de estrella madre, *l*, la misma vista ecuatorialmente, y *o*, la de ovillos hijos con principio de segmentación protoplasmática.—Examen en fresco en el licor sódico-metílico, ligeramente acetificado. Ob. J. y oc, 4, Zeiss.

por pares y aun en grupos de cuatro ó seis, bien que sin recíproco contacto.

b.—*Osteoclastos.* También son células gigantes, (de 20 á 40 μ), pero, á diferencia de las mieloplaxias, no yacen en medio de la médula, sino junto á los huesos, tocando con frecuencia la superficie de las trabéculas y la entrada de las depresiones cavernosas. Su

forma es aplastada, á menudo muy irregular y anfractuosa. La superficie que da al hueso es más ó menos aplanada, y convexa la que mira á la médula (fig. 105, a).

El núcleo es múltiple. A menudo se cuentan 10, 20 y más núcleos pequeños, redondeados, y bien limitados entre sí. Esta multiplicidad nuclear, es un carácter que distingue bien éstos de los elementos mielopláxicos.

Los osteoclastos moran también en las capas profundas del periostio, en el fondo de las depresiones óseas, así como en el interior de las lagunas del cartílago en vías de osificación. Su misión es muy verosímilmente la de absorber las sales (fosfatos y carbonatos de cal) de la materia ósea y cartilaginosa calcificada, haciendo posibles la penetración de capilares y corpúsculos embrionarios.

c.—*Meduloceles.* Son los corpúsculos más abundantes de la médula ósea. Aunque ofrecen numerosas y no bien limitadas variedades, puede afirmarse que las más comunes son: 1.º *Elementos enanos*, de 5, á 5'4 μ, con un núcleo esférico, de red cromática apretada, envuelto en delgada película de protoplasma (g). Aseméjanse mucho estas células á los corpúsculos enanos de los ganglios linfáticos.—2.º *Células más voluminosas*, de 9 á 12 μ, de protoplasma granuloso, abundante, limitado por una membrana muy perceptible; contienen un núcleo grueso, ya esférico, ya con abolladuras, por el estilo de los leucocitos. El protoplasma de algunas células de esta variedad encierra granulaciones grasientas, eosinófilas, tan abundantes á veces, que apenas dejan percibir el núcleo (e, d).

En los animales inferiores, especialmente en los urodelos y anfibios anuros, algunos de estos corpúsculos, que gozan de movimientos amiboides, contienen trozos de hematíes y aun hematíes completos. Aunque más rara vez, también puede comprobarse el hecho en las células de la médula del gato, ratón y conejo.

d.—*Células de Neumann.* Se distinguen, por ofrecer en su mayor parte una forma correctamente esférica, un protoplasma hialino más ó menos teñido por la hemoglobina, y un núcleo esférico, ora central, ora periférico. (Véase origen de los hematíes pág. 381). A esta misma categoría corresponden las células llamadas semihialinas (pág. 382) destinadas probablemente á sufrir la transformación hemoglóbica (fig. 105, m, n, l, o).

Además de estos corpúsculos, contiene la médula ósea *células grasientas*, sobre todo en la variedad amarilla, donde apenas se encuentran otros elementos, y numerosos fascículos, finísimos y entrecruzados de tejido conectivo. Los vasos son abundantísimos; pero, á excepción de las arteriolas, que poseen pared bien caracterizada, los demás ó no la poseen ó queda reducida á tenuísimo endotelio. Es imposible percibir en torno de los capilares el menor asomo de cubierta, circunstancia que, unida á la facilidad con que difunden las inyecciones vasculares en la médula, hacen probable la creencia de que aquellos son simples espacios labrados entre los meduloceles y destinados á recoger los elementos sanguíneos neoformados.

4.—**Caracteres químicos del tejido grasiento.** Las grasas contenidas en las células adiposas son: la *triestearina* y la *tripalmitina*, sólidas á la temperatura ordinaria, disueltas en la *trioleina* que es líquida. Estos principios grasientos resultan de combinaciones de la glicerina con los ácidos *esteárico, palmítico* y *oleico*. Las proporciones relativas de estas grasas son muy variables en las diversas especies de animales: de aquí la diversa consistencia y el distinto punto de fusión que aquéllas ofrecen.

Con la grasa anda mezclada una materia colorante amarillenta no bien estudiada aún. El protoplasma y el núcleo no muestran propiedades especiales. La membrana celular se compone de una sustancia algo semejante á la *elastina*, pues que resiste á la cocción, la potasa y los ácidos enérgicos.

5.—**Propiedades fisiológicas**. Las células adiposas deben estimarse, bajo el punto de vista dinámico, como glándulas monocelulares, cuya actividad consiste en segregar y retener las sustancias grasientas superfluas, para que sirvan de alimento en épocas de carestía orgánica, es decir, cuando los gastos de energía son superiores á los ingresos ordinarios. Para cumplir con este cometido poseen las células adiposas, como las glandulares, una red vascular muy rica.

El mecanismo de la producción de la grasa no está del todo dilucidado. Supónese que las grasas neutras arribadas á la sangre por los quilíferos se saponifican, y en este estado llegan á las células adiposas, donde descompuestos los jabones y segregada la glicerina, volverían á producirse las grasas neutras. Se tiene asimismo,

como verosímil, que las células adiposas aprovechen los materiales hidrocarbonados de la sangre, en la elaboración de la grasa, vista la gordura excesiva que ciertos animales adquieren bajo una alimentación eminentemente feculenta.

En la emaciación orgánica ocurrida en el curso de enfermedades crónicas, en la anemia, etc., la grasa de los elementos adiposos desaparece, siendo sucesivamente reemplazada por un líquido seroso.

En la convalecencia de las enfermedades la grasa se restaura, reabsorbiéndose rápidamente el líquido albuminoide.

La variedad grasienta medular posee además la virtud de engendrar los hematíes de la sangre. (Véase origen de los glóbulos).

6.—**Desarrollo del tejido adiposo.** Las células adiposas aparecen en el tejido conjuntivo subcutáneo, epiplones, etc., de los animales recién nacidos, bajo la forma de corpúsculos granulosos, poliédricos ó irregularmente redondeados, situados unas veces en contacto con las paredes de los vasos, otras á alguna distancia de los mismos. Estos corpúsculos se distinguen ya de las células conectivas en que no son ramificados, y, sobre todo, en el aspecto más fuertemente granuloso del protoplasma, y su mayor aptitud para fijar la hematoxilina y las anilinas (figura 106, e).

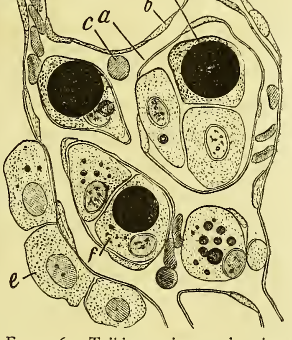


Fig. 106.—Tejido grasiento subcutáneo del perro recién nacido.—Ácido ósmico.—Alcohol.—Carmín.—Glicerina. *a*, capilar; *b*, núcleo de la pared vascular; *c*, hematie; *e*, célula grasienta sin grasa; *f*, otra con gotas grasientas; *g*, una que encierra una gota mayor.

El núcleo es también más rico en cromatina que el de los elementos conjuntivos, poseyendo un tamaño mucho menor.

En este estado las células no tienen todavía grasa y su diámetro oscila entre 13 y 20 μ. Los llamados corpúsculos del jugo y células perivasculares, son, á nuestro juicio, corpúsculos adiposos detenidos en esta fase evolutiva.

Más adelante aparece la grasa bajo la forma de gotas, que crecen continuamente hasta confundirse en una muchísimo mayor.

El protoplasma, muy abundante al principio, se adelgaza, y el núcleo, cada vez más aplanado, es rechazado hacia la periferia por debajo de la membrana.

Durante estas metamórfosis los vasos vecinos envían entre las células puntas de crecimiento, las cuales, anastomosándose entre sí, é interponiéndose á los corpúsculos adiposos, constituyen una red vascular muy tupida. El lobulito adiposo así constituído, se acrece por aposición de nuevas células embrionarias, y quizás por escisión de las preexistentes, puesto que no es raro ver corpúsculos con dos núcleos, y aun en tránsito de kariokinesis.

En suma, los corpúsculos adiposos son células conjuntivas diferenciadas, y desde el principio y antes de contener grasa se caracterizan por especiales propiedades físico-químicas. Los capilares aparecen posteriormente, así como el tejido conectivo laxo que separa los lóbulos adiposos.

Esta opinión, basada en numerosas observaciones, es idéntica á la de Ranvier *(Traité technique d'histologie,* 1875), quien estima las células adiposas como elementos especiales, contrariamente al sentir de Flemming, que las considera como verdaderos corpúsculos conectivos infiltrados accidentalmente por la grasa *(Ueber Bildung und Rückbildung der Fettzellen im Bindegewebe.* —Arch. f. mik. Anat. B. VII, 1870). Kölliker, sin negar que los corpúsculos estrellados del tejido conectivo puedan elaborar grasa, afirma que ésta se forma muy principalmente en ciertos lóbulos de células redondeadas ó poliédricas, exentas de grasa en un principio, dispuestos cerca de los vasos. La grasa aparece rápidamente en cuanto comienza la alimentación láctea, como se comprueba en el gato recién nacido, cuyos lobulillos mesentéricos, sin grasa en los últimos días de la vida fetal, la adquieren abundantemente en cuanto el régimen lácteo se establece. (Würzb. Verh. Bd. 7, 1856, y *Zur Entwickelung des Fettgewebes.* Anatomischer Anzeiger. Sept., 1886).

El tejido medular procede de los elementos conectivos habitantes en los espacios cavernosos del cartílago en vías de osificación. En un principio todas las células ofrecen pequeño diámetro y una figura estelar ó fusiforme. A medida que la materia ósea se depone, y las células embrionarias que pululan por los espacios cavernosos se engloban en la materia calcárea, los elementos restantes se diferencian en dos clases: unos de talla gigante con muchos núcleos colocados en la entrada de las grandes lagunas óseas, y no pocas

veces moldeados á las depresiones que éstas ofrecen (osteoclastos); y otros pequeños, con ó sin apéndices, de núcleo único y relativamente voluminoso (meduloceles).

No es fácil determinar la época en que aparecen las células de Neumann y las mieloplaxias. Lo único que cabe afirmar es que tales elementos están perfectamente constituídos en los últimos días de la vida fetal.

Los osteoclastos y mieloplaxias se multiplican, según nuestras observaciones, en la médula del perro y conejo recién nacidos, por segmentación directa desigual, es decir, que el núcleo ó núcleos destinados á separarse se hacen excéntricos, y, cuando alcanzan una región periférica del protoplasma, se escinden, llevándose consigo un limbo de esta materia. Por esta segmentación se explica la existencia de mieloplaxias pequeñísimas, casi de tamaño de meduloceles, junto á elementos de talla considerable.

La escisión del protoplasma puede ser completamente endógena, según afirman Arnold (1) y Denys (2). Después de algunos fenómenos no bien determinados acerca de la distribución de los hilos cromáticos, el núcleo mamelonado de la mieloplaxia se divide parcialmente, es decir, dando lugar á varios núcleos hijos, pero subsistiendo siempre como núcleo principal. Los núcleos hijos, primitivamente esféricos, se irregularizan, ofreciendo mamelones y gibas que recuerdan las del núcleo viejo, y se rodean después de una capa de protoplasma, que se separará más adelante del protoplasma madre por una línea rigurosa y por delgada membrana. Si las células hijas englobadas yacen periféricas, hácense luego independientes; pero si son centrales, pueden continuar algún tiempo en el espesor de la célula madre hasta que, rota la membrana de ésta, y adelgazada la capa periférica del protoplasma, recobran su libertad é individualidad. La célula madre puede destruirse ó continuar engendrando, por el mismo proceder endógeno, nuevos elementos.

---

(1) Beobachtungen über Kerne und Kerntheilung in den Zellen des Knochenmarkes. *Virch., Arch. B. CIII*, y Weitere Beobacht. ü die Theilungsvorgänge der Knochenmarkezeller und weissen Blutkörpern. *Virch., Arch., B. CIII.* 1883.

(2) La cytodiérèse des céllules géantes et des petites céllules incolores de la moelle des os. *(La céllule.* Lierre, 1886).

Denys ha descrito en las meloplaxias un proceder kariokinético con algunas variantes *(cinesis múltiple)* que expondremos aquí sumariamente. En la kariokinesis ordinaria se forman sólo dos estrellas hijas procedentes de la segmentación longitudinal de los hilos de la estrella madre. En las mieloplaxias, el elemento cromático constituye un hilo apelotonado, que se escinde transversal y longitudinalmente, formando una bola ó estrella madre compleja, de donde resultan no dos, sino muchas coronas polares ó estrellas hijas, cada una de las que engendra un núcleo perfecto. Nosotros hemos comprobado en la médula del perro y conejo de Indias algunas de las fases descubiertas por Denys. No obstante, nuestras observaciones sobre este punto no son suficientes para emitir un dictamen autorizado.

7.—**Preparación del tejido grasiento.** 1.—*Adiposo común.* Un trozo extendido de epiplon mayor del gato, perro ó conejo, recién nacidos ó de pocas semanas, se tratará, durante media hora, por una solución de ácido ósmico al 1 por 100; luego se lavará, para quitar el ácido excedente, y se someterá, por veinticuatro horas lo menos, á la acción del picrocarminato. Las preparaciones montadas en glicerina mostrarán las gotas de grasa negras, moreno-amarillento el protoplasma, y rojos los núcleos de las células adiposas. Antes de tratar la preparación por la glicerina, convendrá lubrificarla por algunos minutos con alcohol; de este modo las células no sufrirán retracciones, ni se alterará la grasa ennegrecida.

Se obtendrán igualmente buenas preparaciones por el proceder de las inyecciones intersticiales de ácido ósmico en el tejido subcutáneo del perro de pocos días, (véase pág. 435). Podrán seguirse en estos preparados, convenientemente teñidos, todas las fases evolutivas de la célula grasienta.

Para el estudio del protoplasma, núcleo y membrana de estos elementos, nada mejor que las inyecciones intersticiales con el licor sódico-metílico, (véase pág. 434). El núcleo se presentará coloreado en violeta, ostentando una red cromativa distinta y el protoplasma de violado pálido.

La membrana de las células grasientas se hará visible tratando pedazos de tejido adiposo, primero por el alcohol absoluto (10 á 15 minutos) y después por el éter en ebullición durante 15 á 20 minutos. La observación, que se ejecutará en el agua, mostrará las membranas celulares arrugadas y vacías.

2.—*Médula ósea.* La mejor preparación es la que consiste en diluir el tejido fresco en un líquido indiferente. Para ello se tomará un trozo de la médula rojiza de un hueso largo (tibia, fémur, etc.), perteneciente á un mamí-

fero joven de una á cuatro semanas, por ejemplo, el conejo indiano, y se la diluirá sobre un porta-objetos con una gota de solución salina al 0'75 por 100, y, aun mejor, con el líquido sódico-metílico.

Si empleamos este último licor, los núcleos se teñirán ligeramente, en especial los kariokinéticos, mientras el protoplasma permanecerá incoloro ó apenas impregnado. La hemoglobina de las células de Neumann conservará su color y podrá notarse su gran alterabilidad.

Para estudiar bien los núcleos de los elementos medulares, especialmente los mielopláxicos, se tratará la médula fresca por una gota de solución acetificada de verde de metilo ó de violado de dalia. La hemoglobina se disolverá inmediatamente; los núcleos de las células rojas se teñirán intensa y casi homogéneamente, en tanto que los demás núcleos, los de las mieloplaxias y osteoclastos exhibirán hermosas redes cromáticas. Por este medio se demostrarán también las membranas celulares y podrán estudiarse de un modo perfecto los fenómenos kariokinéticos de las células hialinas y rojas.

Otro proceder que da muy buenos resultados, especialmente en el estudio de la topografía y conexiones de las células medulares, es el siguiente: Un hueso intacto de perro ó conejo de pocos días se macerará por 4 ó 6 en el licor de Flemming (ácido crómico, 0'25, ácido ósmico, 0'1, ácido acético, 0'1 agua, 100); luego por veinticuatro horas en el alcohol; después por doble tiempo en una mezcla de éter y alcohol; por último, se incluirá en la celoidina. Los cortes transversales microtómicos se recogerán en una mezcla de agua y alcohol saturada de safranina, se lavarán en alcohol absoluto, se aclararán en la esencia de bergamota y se montarán en el bálsamo. Por este proceder los núcleos aparecen teñidos de rojo, ofreciendo todos los detalles de la cromatina.

He aquí otro método que permite conservar los elementos disociados. Sobre un cristal se dislacera rápidamente un poco de médula fresca. Antes que se seque se la trata por algunas gotas de alcohol absoluto, y luego por una solución concentrada de eosina en alcohol. A los pocos minutos se lavará el preparado en agua, se teñirá por la hematoxilina y se montará en la glicerina pura. Los núcleos se mostrarán violados y las células hemoglóbicas de color rosáceo amarillento.

CAPITULO X

TEJIDO CARTILAGINOSO

1.—**Def.** Es un tejido sólido, semitransparente, compuesto de células envueltas por una gruesa membrana llamada cápsula, y de una materia fundamental abundante, susceptible de transformarse en condrina por la cocción.

2.—**División.** Distínguense tres variedades de tejido cartilaginoso: 1.°, *Cartílago hialino,* ó de materia fundamental de apariencia homogénea; 2.° *Cartílago reticular* ó elástico, cuya sustancia intercelular está recorrida de fibras elásticas, y 3.° *Cartílago conjuntivo* ó fibrocartílago, cuyas células están separadas por haces colágenos.

A.—**Variedad hialina.**—1. **Distribución general y caracteres físicos.** Forma este tejido la costra cartilaginosa de las superficies articulares diartródicas, la trama de los cartílagos costales, de los nasales y del aparato respiratorio, exceptuando la epiglotis y los aritenoides. Hállaselo también en la trompa de Eustaquio, sobre los bordes del esternón, omoplato, cresta iliaca de los animales jóvenes, y constituyendo el esqueleto en la época embrionaria. Las ternillas de los cefalópodos, de los peces cartilaginosos, de las larvas de batracio pertenecen á la misma variedad.

El color del cartílago hialino es blanco azulado, transparente en pequeñas porciones y opalino en las gruesas; goza de gran elasticidad, de regular consistencia y extensibilidad. Su peso específico es de 1'095 á 1'097 según Krause y Fischer.

2.—**Caracteres micrográficos.** Consta el cartílago hialino de células y materia fundamental.

a.—*Células.* Son elementos típicos, con protoplasma, núcleo y cubierta. Su *forma* es esferoidal, ovoidea, y, á veces, semilunar; su *tamaño* oscila entre 14 y 24 μ.

Habitan dentro de unas lagunas (condroplasmas), esculpidas en el espesor de la materia cartilaginosa. Durante la vida, el protoplasma llena exactamente estas cavidades; pero después de la muerte, y bajo la influencia de los reactivos, la célula se retrae, constituyéndose un espacio entre el protoplasma y la cápsula, donde se acumula el enquilema ó jugo celular exprimido.

El *protoplasma* es finamente granuloso durante la vida, más turbio después de la muerte. En él se muestra, sobre todo, después de la acción de los ácidos diluídos, un retículo laxo, cuyas fibras son en gran parte irradiadas desde el núcleo á la periferia. Contiene el protoplasma inclusiones grasientas muy abundantes en los cartílagos adultos del hombre y mamíferos superiores, bajo la forma de gotas que impiden, á veces, por su magnitud, la percepción del núcleo. En las células jóvenes el yodo revela cierta cantidad de materia glucógena.

En cuanto al *núcleo* se presenta, por lo común, único, esférico, oval, y está provisto de una red cromática apretada, con dos ó tres nudosidades gruesas (nucleolos).

La disposición de las células varía algo en las distintas regiones de un cartílago. Por ejemplo, en los cartílagos costales, los elementos superficiales son más chicos, numerosos y aplanados que los profundos. Este aplanamiento, que les presta una forma lenticular, es paralelo á la superficie del pericondro ó membrana conjuntiva que los envuelve. Los corpúsculos situados en la región central son alargados en el sentido del eje del cartílago, ofrecen un tamaño mucho mayor y con frecuencia cápsulas gruesas y complicadas. En las zonas intermedias las células son más redondeadas y su orientación menos determinada.

Ordenamiento semejante exhiben los cartílagos traqueales, laríngeos, etc. En los articulares también son delgadas y paralelas las células superficiales, mayores y perpendiculares las profundas, es decir, las rayanas á la superficie ósea, é intermedias en tamaño é indiferentes en orientación las habitantes entre ambos estratos.

Las células cartilaginosas pueden hallarse aisladas y grandemente distanciadas entre sí; pero es más común encontrarlas agrupadas en familias, que Renaut llamó grupos *isogénicos.* En los cartílagos jóvenes forman parejas, cuyas caras protoplasmáticas

próximas son planas ó ligeramente cóncavas; á veces constituyen grupos de tres elementos: dos mirándose por las superficies de segmentación y uno grueso con indicios de próxima división. En los cartílagos viejos y aun en los del hombre adulto, (costal, del ala nasal, etc.), los grupos se complican formando familias de cuatro, seis y más elementos. Estas familias están separadas de las demás por una zona clara, resto de la cápsula primera elaborada por el corpúsculo embrionario del cual descienden todos los individuos de la agrupación celular.

b.—*Materia fundamental.* Tiene que considerar las *cápsulas*, las *fibrillas condrígenas*, *fibras permeables* ó conductos de Budge *y las placas fibrosas tingibles al carmín.*

Cápsulas. Cuando se afoca la materia fundamental que rodea inmediatamente la célula cartilaginosa, se advierte un limbo ó atmósfera separada vagamente del resto de la materia intercelular, pero correctamente limitada hacia adentro por la cavidad condroplasmática. Este limbo, es la cápsula cartilaginosa. Su espesor es muy variable en los diversos cartílagos y aun en las diversas especies animales. En la rana, por ejemplo, las cápsulas tienen un espesor de menos de una μ; en los cartílagos costales del hombre llegan á tres y más, según la edad de las células. La cápsula es homogénea, á veces formada por granos refringentes (cartílago costal), y participa de las propiedades físicas y químicas de la materia fundamental. No obstante, si el cartílago se trata por la hematoxilina y el ácido acético, sólo las cápsulas se tiñen (fig. 107, d).

Este mismo reactivo, así como el examen de cortes de cartílago viejo en el agua, demuestran que la materia intersticial entera está constituída por cápsulas englobadas, de las cuales sólo la última ó la más cercana á la célula es bien visible. Estas zonas capsulares son depósitos de materia, debidos á la actividad secretoria de las células. Cada estrato representa el trabajo de un elemento en su período de descanso, es decir, en el intervalo de dos segmentaciones. Así que puede colegirse por el número de cápsulas que envuelven un corpúsculo el número de segmentaciones ocurridas. El cartílago embrionario, donde apenas han tenido lugar divisiones celulares, posee escasísima materia intersticial.

Fibras condrígenas. Cuando se examina la materia fundamental

cartilaginosa, bien en agua, bien en glicerina, ya en el propio plasma que empapa el cartílago fresco, ningún detalle puede descubrirse, como no sea la presencia de las últimas formaciones capsulares. Mas si los cortes de cartílago fresco se maceran en una solución de hipermanganato potásico, sal al 10 por 100, tripsina etc., percíbense en la materia intersticial unas fibras finísimas, separadas por una ganga ó cemento de unión poco abundante. Estos filamentos son plexiformes, constituyendo mallas estrechísimas, cuya dirección predominante es longitudinal en los cartílagos costales. Las fibras se separan en torno de las cápsulas divergiendo y entornándolas para volver á reunirse. Los menudos granos que los cortes transversales de la materia cartilaginosa revelan examinados á grandes aumentos, son, verosímilmente, la sección óptica de las expresadas hebrillas (fig. 110).

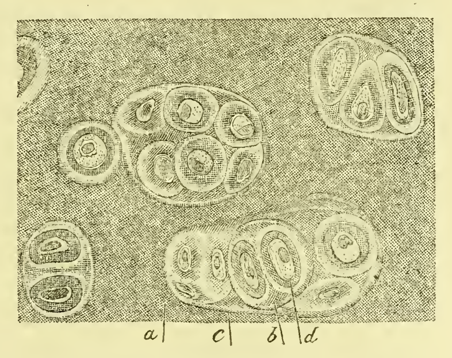


Fig. 107.—Cartílago del ala de la nariz del hombre.—Alcohol.—Hematoxilina.—Ácido acético.
a, materia intersticial primitiva; *c*, cápsula antigua; *b*, cápsula más reciente; *d*, la cápsula últimamente elaborada.

Fibras permeables. Así calificamos unas fibras más refringentes, gruesas y escasas que las precedentes. Su diámetro varía de una á varias milésimas; su dirección es algo flexuosa. Las delgadas son homogéneas y de bordes correctos; las más gruesas se muestran fasciculadas, ramificadas y anastomosadas entre sí como los fascículos conectivos. Esta disposición es muy evidente en el cartílago esclerotical de la raya y en el de la cabeza de los cefalópodos.

Las fibras permeables se muestran claramente en los cartílagos de animales jóvenes, á condición de que el examen se verifique en el alcohol. Si después de la induración en este líquido se tratan los preparados por el agua, glicerina ó cualquier líquido acuoso, las fibras se hinchan, pierden su exceso de refringencia y se tornan completamente invisibles.

En los cartílagos costales de mamíferos jóvenes (perro, gato,

conejo etc.), las fibras permeables se presentan en las zonas periféricas, escasas, cortas y todas convergentes al centro del cartílago; nacen debajo del pericondro bajo la forma de haces de finas hebras casi rectas y terminan en la primera ó segunda serie de cápsulas, llegando hasta la superficie misma del protoplasma, bien que sin fundirse con él. En una zona más profunda, las fibrillas son más numerosas y están dispuestas en gruesos fascículos, que proceden de casi todos los planos de las cápsulas, irradiando y comunicándose con los corpúsculos vecinos. En la zona más honda ó axial casi todas las fibras son longitudinales, es decir, paralelas al eje del cartílago, enlazando, en esta dirección, las cápsulas vecinas (fig. 108).

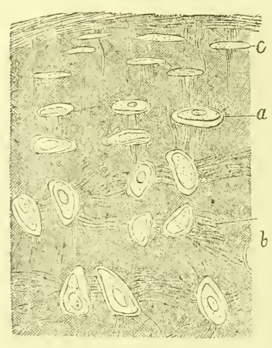


Fig. 108. — Corte transversal del cartílago costal del perro joven. Induración y examen en alcohol. *a*, condroplasma dentro del cual se ve el cuerpo celular retraído; *c*, célula superficial aplastada cuyo contorno recibe dos grupos de fibras permeables perpendiculares; *b*, fibras permeables intercapsulares.

Aparte de estos fascículos, cuyo papel parece ser poner en relación las cápsulas entre sí, existen fibrillas y haces erráticos, plexiformes, que caminan á distancia é independientemente de las células. Semejantes fibrillas, mucho más abundantes en los cartílagos de los peces y cefalópodos, sólo se hallan en los territorios centrales del cartílago costal.

Cuando el corte de cartílago ofrece la sección de un capilar, es de ver cómo convergen todas las fibrillas á la pared de éste. En la superficie misma del cartílago, las fibras atraviesan la capa más profunda del pericondro, y se concentran de preferencia en los intersticios conjuntivos provistos de vasos.

En los cartílagos articulares (rana, conejo, etc.), las fibras del primer plano son también perpendiculares á la superficie cartilaginosa, y las profundas paralelas á ésta, enlazando entre sí las cápsulas inmediatas.

Las fibras permeables son abundantísimas en los peces cartilaginosos y en las ternillas de los cefalópodos. En el nódulo esclerotical de la raya y del torpedo son gruesas, numerosas y de forma laminar. Las superficiales son perpendiculares, las profundas para-

lelas al plano del cartílago. Además de las fibras intercapsulares dominan aquí aquellas fibras gruesas ramificadas y plexiformes que no tocan sino accidentalmente á las cápsulas.

El cartílago de la cabeza de los cefalópodos (fig. 109) es interesante por varios motivos. Las células carecen de cápsulas aparentes, y de la periferia protoplasmática emergen apéndices cónicos que se ramifican dicotónicamente, adelgazándose sucesivamente y terminando en puntas de extrema tenuidad. Casi toda la materia intersticial está llena por estos apéndices, cuyo aspecto granuloso, frecuentes ramificaciones, colorabilidad al carmín, son caracteres que les diferencian netamente de las fibras permeables.

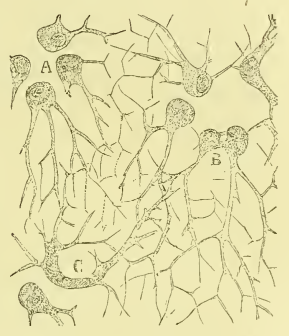


Fig. 109.—Cartílago cefálico de la jibia.—Ácido ósmico. — Picrocarminato.—Glicerina.

A, grupo de cuatro células; B, célula en vías de segmentación; C, célula de forma semilunar.—Nótese que los apéndices faltan en las caras que miran á las células de la misma familia.

En cuanto á las últimas, son abundantísimas en los cefalópodos. Nacen del pericondro, de los mismos fascículos conjuntivos que lo forman, con los que evidentemente se continúan, y abordan perpendicularmente las primeras series de células, cruzando la dirección de los apéndices protoplasmáticos, sin fundirse nunca con ellos. En capas más profundas, las fibras permeables son muy numerosas y marchan en todas direcciones, formando elegantes bucles de hilos que enlazan los contornos celulares. En las capas próximas á la cavidad cefálica predomina la orientación paralela á la superficie cartilaginosa.

La naturaleza y significación de las fibras permeables es todavía objeto de encontrados pareceres. El elevado índice de refracción de las mismas, su aspecto estriado, su gran poder de imbibición, la ausencia de agujeros en sus cortes transversales, prueban que no son, como algunos fisiólogos han supuesto, conductos preexistentes que pondrían en comunicación las cápsulas. Y por otra parte, su independencia del protoplasma, su carencia de granulaciones, su incolorabilidad al carmín, su enorme grosor y evidente fibrilación en las ternillas de ciertos peces, impiden que sean estimadas como

apéndices protoplasmáticos, tanto más cuanto que en los cefalópodos coexisten éstos con las fibras permeables, mostrando propiedades y disposiciones tan distintas, que la confusión es imposible. Por todo lo cual creemos que se trata en este caso de fibras especiales cuyo curso, dirección, origen pericondral, naturaleza fibrilar, las aproximan á las perforantes de Sharpey de los huesos. El gran poder de imbibición de que gozan, su convergencia á los capilares, sus enlaces con las cápsulas, su emergencia preferente de los espacios interfasciculares del pericondro, que son verdaderas lagunas conjuntivas, hasta su abundancia en los cartílagos gruesos y jóvenes, anuncian que su función puede no ser ajena á la nutrición del cartílago, del cual representan quizás las partes porosas ó vías permeables á los plasmas linfáticos.

La dificultad de explicarse la nutrición en las células cartilaginosas, rodeadas de una materia fundamental casi impermeable á las sustancias coloides, ha movido á los histólogos á admitir la existencia de conductos de irrigación extremadamente finos ó de expansiones protoplasmáticas que, cruzando la sustancia intercalar como las del cartílago de los cefalópodos, sirviesen de conductores del riego nutritivo.

Ya Bubnoff (Beiträge zur Kenntniss der Structur des Knorpels, 1868) creyó percibir finos canalículos en muchos cartílagos hialinos previamente macerados en un soluto de ácido ósmico al 1 por 4.000. Más tarde, Budge, (Die Saftbahnen im hyalinen Knorpel *Arch. f. mik. Anat. 1. Helf.* 1877, y Spina (Ueber die Saftbahnen des hyalinen Knorpels. *Sitzungsber. d. Wien. AK. Bd. 80. 1879)* señalaron hechos análogos. El primero de estos autores describió conductos plasmáticos en los cartílagos articulares, valiéndose para sus demostraciones unas veces de inyecciones de azul de Prusia en las cavidades sinoviales, otras de asfalto disuelto en esencia ó en cloroformo que hacía penetrar de varios modos en el espesor de la trama fundamental cartilaginosa. Estas materias dibujan en la sustancia intercelular una red de conductitos que ponen en relación las cápsulas, cuya cavidad vendría á ser simple confluencia dilatada de aquéllos.

Spina señaló particularmente estos conductos en la cabeza del fémur de la rana, valiéndose de un método que, aun hoy, es el mejor y más sencillo para estas demostraciones: maceración del cartílago fresco en alcohol por varios días y examen en alcohol mismo. Según este autor, los conductitos están dispuestos en haces que irradian de las cápsulas, y se anastomosan entre sí; pero, á diferencia de Budge, que los suponía vacíos, sostiene que tales tubos

contienen expansiones celulares como las del cartílago de los cefalópodos. Las figuras que da este histólogo de los referidos tubitos son, por lo demás, muy semejantes á las que Budge obtuvo más adelante, tratando por el éter el cartílago de la vaca. (Weitere Mitheilungen über die Saftbahnen im hyalinen Knorpel. *Arch. f. mik. Anat. Bd. XVI. S. 1.* 1879).

Elsberg, (Contributions to the normal and pathological Histology of the cartilages of the larynx. *Arch. of Laringology.* V. II. 1881.) Heitzmann, (Mikroscopische Morphologie des Tierkörpers. Wien. 1883) y Nykamps, (*Arch. f. mik. Anat.* B. 14. 1887) publicaron análogas observaciones, llegando á las mismas conclusiones.

Como mucho antes de estos trabajos, otros observadores, como Tillmanns (Beiträge zur histologie der Gelenke, *Arch. f. mik. Anat. Band.* X. 1874) y (Ueber die fibrilläre Structur des Hyalinenknorpels: *loc cit.,* 1877). Baber (On the Structure of hyaline cartilage. *Journal of. Anatomy and. Physiology.* Vol. X. 1875), etc., habían descrito ciertas fibrillas finísimas en la materia fundamental del cartílago hialino, surgió la cuestión de si los conductitos de Budge y de Spina serían simplemente las fibrillas de aquellos autores demostradas con otros métodos. Vogel (Die Saftbahnen des Hyalinen Knorpels. 1883) y van der Stricht (Recherches sur le cartilage hyalin. *An. de la Société méd. de Gand.* 1885) no vacilan en afirmar la identidad de ambas cosas. Para nosotros es indudable que las fibras de Tillmanns no son las descubiertas por Spina, pues mientras aquéllas constituyen toda la trama de los cartílagos, y son finísimas é invisibles al alcohol, éstas sólo en contados parajes se hallan, son mucho más gruesas, y sólo el éter ó alcohol las ponen en completa evidencia.

Más recientemente, y en el curso de nuestras indagaciones, ha aparecido una memoria de Spronck (Zur Kenntniss der Structur des Hyalinen Knorpels. *Anat. Anzeiger.* Abr. 1887), en la cual se ocupa de las fibras del cartílago de la cabeza del fémur de la rana, haciendo descripciones semejantes á las de Spina; mas no estima las expresadas fibras como anastomosis protoplasmáticas ni como conductos plasmáticos, sino como fibras de una materia especial, cuyo enérgico poder de imbibición les prestaría aptitud para absorber y trasladar los jugos nutricios hasta las cápsulas. Parecido criterio defendemos nosotros en un trabajo casi coetáneo al precedente en que hemos estudiado las fibras permeables en los cartílagos costales del conejo y perro, nódulo esclerotical de la raya y cartílago de los cefalópodos. (Sobre los conductos plasmáticos del cartílago hialino. *La Crónica médica.* Abril de 1887).

Placas fibrosas. En los territorios más lejanos de las cápsulas y en las zonas centrales de los cartílagos costales del adulto, se ven unas manchas de un granulado amarillento, áspero, tingible de

rojo intenso por el carmín. Estas placas rodean á las cápsulas, mas sin invadirlas nunca, y exhiben en su espesor ciertas fibras brillantes, rectilíneas, á veces granulosas, cruzadas en ángulos agudos, pero ni ramificadas ni anastomosadas. En la periferia de la placa estas fibras se desvanecen, así como el color adquirido al carmín, resolviéndose en un limbo granuloso unido al resto de la materia fundamental por suaves transiciones. No son las fibras, sino la materia fundamental la que goza de afinidad por el carmín. La safranina y el violeta de metilo tiñen asimismo esta ganga interfilar, en tanto que otros reactivos como la hematoxilina, verde de metilo, etc., la repugnan. Resisten las fibras citadas á los ácidos y alcalis, lo que las separa de las conjuntivas. Su aspecto oscuro, como cristalino, así como su asociación en placas de varia extensión, las distingue de las demás fibras cartilaginosas.

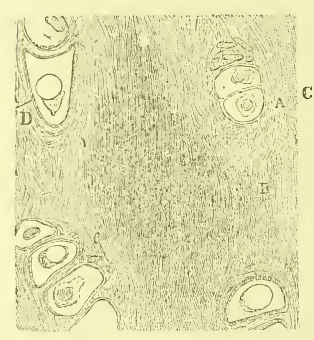


Fig. 110.—Cartílago costal del hombre.—Examen en agua salada previa coloración en carmín.
A, finas hebras de la materia fundamental; D, cápsula; C, zona granulosa que refuerza la cápsula.—En el centro del dibujo se ve una placa fibroide.

El hecho de que las placas fibroides aumentan con la edad de los cartílagos, hace suponer que representan una degeneración senil de la sustancia fundamental cartilaginosa.

B.—**Cartílago-fibro-conjuntivo.** Forma los discos intervertebrales y los meniscos y rodetes articulares de las diartrosis. Asimismo constituye los cartílagos tarsos, los nódulos sesamoides de los tendones, parte de los aritenoides.

Examinado al microscopio en delgados cortes, se ve que consta de células y materia fundamental. *Las células* son pequeñas, esferoidales ú ovoideas, provistas de una cápsula sumamente delgada. Son también más numerosas y aplastadas en los planos superficiales que en los profundos. La dirección rectilínea de los haces de la sustancia intersticial obliga á las células, como sucede en el tendón, á disponerse en series más ó menos regulares. Con todo, falta muchas veces la orientación rectilínea, por causa de la

irregularidad que ofrece en ciertos casos la dirección de los haces La *materia fundamental* contiene fascículos rectos ó ligeramente ondulados de fibras colágenas. Su dirección es variable, predominando la perpendicular al plano principal del cartílago, (discos vertebrales). Con frecuencia se cortan perpendicularmente los haces de cada estrato fibrilar. Los manojos están íntimamente unidos entre sí por una materia amorfa, más consistente que la que traba los fascículos del tejido conectivo laxo.

C.—**Fibro-cartílago elástico.** Corresponden á esta variedad la ternilla de la oreja, la epiglotis, los cartílagos de Santorini y de Wrisberg y parte de los aritenoides. Ofrece el cartílago elástico color amarillento, elasticidad notable y consistencia menor que la del cartílago hialino.

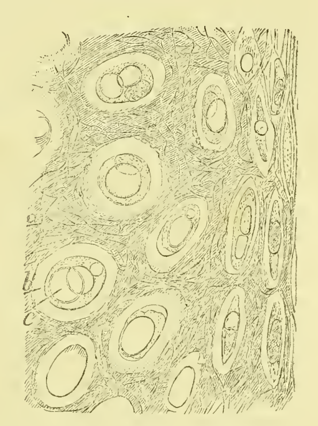


Fig. 111.—Cartílago de la oreja del conejo.—Alcohol. — Goma pícrica. — Picrocarminato.
a, fibras elásticas; *b*, cápsula gruesa y clara; *c*, gota de grasa.

El microscopio denuncia en ésta como en las demás formas cartilaginosas células y sustancia intersticial. Las *células* son voluminosas (de 15 á 30 μ) aplanadas en las regiones superficiales ó subpericondrales, esferoidales en las profundas. Contienen protoplasma, núcleo y casi siempre una ó varias gotas de grasa. Rodéanse estos corpúsculos de cápsulas gruesas, transparentes y homogéneas. La *materia intersticial* es granulosa y tingible por el carmín; en su seno hállanse numerosas fibras y redes elásticas que rodean las cápsulas sin penetrar en su espesor (fig. 111, a). Las fibras elásticas escasean en las zonas subpericondrales, pero son muy abundantes en torno de las gruesas células centrales, donde á veces cubren toda la materia fundamental (epiglotis).

Todas las formas cartilaginosas, exceptuando los cartílagos articulares, están rodeados de una membrana fibro-vascular que se llama pericondro. Los fascículos más profundos de esta cubierta se continúan y confunden por gradaciones suaves con la materia

hialina intersticial. Las llamadas fibras permeables son quizá simple expansión del pericondro. De la red capilar de esta membrana dimanan los escasos capilares que cruzan el cartílago conjuntivo y el fibro-elástico. En la variedad hialina faltan los vasos casi por completo, exceptuando los cartílagos costales adultos de los grandes mamíferos, donde se los halla constantemente.

3.—**Composición química del cartílago.** *a.—Células.* Contienen grasas neutras y materia glucógena, colorable en moreno por el yodo.

b.—Materia fundamental. El agua y los ácidos diluídos no la modifican. Mediante la ebullición prolongada se disuelve, transformándose en un principio análogo á la gelatina, la *condrina.* Esta metamórfosis comienza en las fibrillas de la sustancia intercalar, gana después las cápsulas, resistiendo en parte las células.

Las fibras del cartílago fibro-conjuntivo dan *gelatina* por la cocción. El fibro-elástico da *condrina* y *elastina.*

4.—**Propiedades fisiológicas.** Hemos dicho ya que el cartílago no posee capilares ó los tiene escasísimos; de ahí la poquedad de su nutrición y la lentitud con que tienen lugar los fenómenos proliferativos. El arribo de los plasmas nutritivos se verifica probablemente á través de las fibras permeables. En los cartílagos viejos, donde tales fibras escasean ó han desaparecido, la nutrición es remisa ó viciosa, por consecuencia de lo que las células sufren la degeneración grasienta y á veces la infiltración calcárea. Carece el cartílago de nervios y, por ende, de sensibilidad.

El papel que los cartílagos desempeñan en la economía es más mecánico que fisiológico. Bajo el punto de vista evolutivo, pueden estimarse los cartílagos como un residuo del esqueleto embrionario que, por causas desconocidas, no ha llegado á osificarse.

5.—**Desarrollo.** El cartílago fetal aparece primeramente alrededor de la notocorda en los cuerpos de las vértebras; sólo más adelante constituye casi todas las piezas del esqueleto.

El cartílago se engendra por una diferenciación de las células conectivas embrionarias. Éstas conservan su forma esferoidal y se asocian para formar una masa coherente. Inmediatamente se inicia la secreción de una materia fundamental, sólida y homogénea, cada vez más abundante, que traba fuertemente las células entre

sí. Los corpúsculos cartilaginosos se multiplican rápidamente por generación endógena, unas veces directa, otras, como Schleicher y Flemming han demostrado, kariokinética. Este modo de división es muy fácil de comprobar en los cartílagos de las larvas de salamandra, tritón y rana, así como en las del pleurodelo Waltii, donde nosotros la hemos estudiado muchas veces.

Cada célula neoformada engendra una cápsula que sumada á las elaboradas por las células madres, constituirá la materia fundamental. De aquí que la edad de un cartílago pueda medirse por la cantidad de su sustancia intersticial.

6. **Preparación del tejido cartilaginoso.**—a. *Variedad hialina. Células.* Para demostrar todos los detalles relativos á las células, convendrá elegir como objeto de examen el cartílago pubiano ó el del fémur de la rana. Los cortes, ejecutados en fresco, se examinarán en su propio plasma ó en una gota de licor salino indiferente. A fin de revelar los núcleos y discernir el retículo del protoplasma, se tratarán los cortes por una gota de soluto de verde de metilo acetificado.

Podrán también estudiarse las células con provecho en los cartílagos costales de mamíferos jóvenes. Los métodos anteriores son también aplicables aquí.

Para obtener preparados definitivos de células, es preciso que el cartílago haya sido fijado de antemano y colorado después; de otra suerte los protoplasmas se retraen, y los núcleos se tiñen imperfectamente. La fijación podrá alcanzarse macerando las piezas cartilaginosas por varias horas en ácido pícrico á saturación, en alumbre en solución concentrada, ó también en ácido ósmico por 12 horas. El licor de Kleinenberg puede asimismo utilizarse. Después de permanecer varias horas en cualquiera de estos líquidos, se tratarán las piezas por el alcohol, y se teñirán ya por el picrocarminato, ya por la hematoxilina, bien por las anilinas (método de Hermann-Bötcher). La purpurina, recomendada por Ranvier, nos ha dado excelentes resultados.

El cartílago fresco es susceptible de colorarse también con ventaja por la safranina. Los cortes se teñirán por un minuto en una solución de safranina al 0'05 por 100; después se lavarán en agua que contenga algunas gotas de ácido acético. La sustancia fundamental aparecerá amarilla y rojas las células y núcleos.

Cápsulas. Se demuestran muy bien examinando cortes de cartílago costal humano, en una solución salina al 10 por 100. Si los cortes, fijados antes por el alcohol, se tiñen á la hematoxilina y se aclaran por el ácido acético, las cápsulas se presentarán de color violeta, tanto más intenso cuanto más

recientes. Con este mismo fin, aconseja Frey macerar los cortes cartilaginosos, por un par de días, en ácido nítrico dilatado en su volumen de agua, y saturado de clorato de potasa. Los cortes, una vez privados de este reactivo, podrán teñirse con carmín ó rojo de anilina.

Fibrillas condrígenas. Para evidenciarlas, se macerará por unos días en solución salina al 10 por 100 un trozo de cartílago costal ó articular de mamífero. El examen de finos cortes en el mismo vehículo demuestra en la trama cartilaginosa la existencia de hebras sumamente finas. El método de las digestiones artificiales (solución de tripsina en un soluto de ácido salicílico, maceración de los cortes por algunos días en este líquido á la temperatura de 37°, examen de los mismos en agua salada), hará bastante perceptibles las fibrillas de Tillmanns. Las soluciones de hipermanganato de potasa y la cocción no muy prolongada del cartílago, son también útiles bajo este aspecto. En todo caso, se utilizarán siempre cartílagos frescos procedentes de hombre adulto ó de grandes mamíferos. Los cartílagos embrionarios y los de individuos jóvenes muestran difícilmente las fibrillas condrígenas.

Fibras permeables ó conductos de Budge. El proceder más expedito y demostrativo es el de Spina: induración del cartílago fresco en alcohol fuerte y ejecución de cortes finos que se examinarán también en alcohol. Para efectuar cortes perpendiculares en los cartílagos articulares, recomienda Spronck el alcohol con algunas gotas de ácido nítrico. Este licor decalcifica el hueso sin dañar en lo más mínimo las fibras permeables.

Para conservar las fibras permeables en preparaciones definitivas, nosotros nos servimos del fijador de Spronck compuesto de: solución acuosa de ácido crómico (al 2 por 100), 5 cent. cúb.; glicerina, 5; alcohol absoluto, 30. En este líquido permanecerán los cortes de cartílago de 6 á 12 horas; en él adquirirán color moreno verdoso, y en lo sucesivo podrán soportar, sin detrimento, el agua, glicerina, etc.

El método aconsejado por Budge para evidenciar lo que él llama conductos del jugo, es el siguiente: colóquense cortes delgados de cartílago articular de vaca en un vidrio de reloj lleno de éter sulfúrico; cuando el éter se haya evaporado se trasladarán las secciones á un porta-objetos y se cubrirán de colodion. Los conductos del jugo (fibras permeables) se percibirán en oscuro sobre fondo claro.

Placas fibroides. Con el fin de ponerlas de manifiesto, se tratará un cartílago costal de hombre adulto por el picrocarminato, y luego por el ácido acético. Las placas fibroides aparecerán coloradas en rosa que contrastará con el color blanco del resto de materia fundamental. Si antes de la acción del ácido acético se tiñe la preparación con hematoxilina, la coloración será doble: las cápsulas se mostrarán violadas, rojos los núcleos y placas fibrosas é incolora la materia fundamental.

Cartílago fibro-conjuntivo. Elíjase un pedazo de disco intervertebral, que se macerará por unos días en bicromato de potasa al 2 ó 3 por 100, y luego en alcohol absoluto. Los cortes se teñirán por el carmín ó las anilinas.

Cartílago elástico. Tómese un trozo de epiglotis de perro, ó de oreja de conejo, é indúrese por unos días en alcohol y luego en goma y alcohol absoluto. Los cortes, teñidos al picrocarminato, mostrarán las cápsulas blancas, la materia intersticial rosada, las fibras elásticas amarillas, y los núcleos y el pericondro rojos.

CAPÍTULO XI

TEJIDO ÓSEO

1.—**Def.** Es un tejido de consistencia pétrea que consta de una materia fundamental estratificada, fibrilar é incrustada de sales calcáreas y de ciertas cavidades canaliculadas y anastomosadas (lagunillas) donde están alojadas las células óseas.

2.—**Div.** Macroscópicamente, cabe dividir el tejido óseo en *esponjoso, reticular y compacto.* El *esponjoso* constituye casi todo el espesor de los huesos cortos y anchos, y aparece á la simple vista formado de un conjunto de areolas ó cavernas comunicantes entre sí y separadas por delgadas laminillas. Estas laminillas no están dispuestas al azar, sino ordenadas en líneas coincidentes con la dirección de las presiones que los músculos y el peso de los órganos determinan en los huesos. Cuando las citadas trabéculas son estrechas y como filiformes, origínase la variedad *reticular,* cuyo asiento preferente es la diáfisis de los huesos largos, alrededor del conducto medular. El tejido *compacto* es de apariencia homogénea, y construye la diáfisis de los huesos largos y la lámina exterior de todos los huesos. Estas diferencias macroscópicas no implican diversidad de constitución histológica; en todas las partes óseas se hallan iguales elementos y un modo de asociación idéntico de los mismos.

3.—**Caracteres físicos y distribución general.** El tejido óseo forma la porción principal de los huesos, y bajo la denominación de *cemento* una parte de la raíz de los dientes. La sustancia compacta es blanco amarillenta, durísima, de apariencia fibrosa á la simple vista; su peso específico es de 1'930; su elasticidad notable y variable con la edad. Por consecuencia de la delicadeza de su construcción, la variedad esponjosa es más frágil que la compacta; su peso específico, es, según Krause y Fischer, de 1'243.

4.—**Caractères micrográficos.** El examen micrográfico demuestra en los huesos las siguientes partes: *conductos de Havers, laminillas de materia fundamental, lagunas y conductos calcóforos, células óseas, capilares y fibras de Sharpey.*

a.—**Conductos de Havers.** Cuando se examina un corte longitudinal de la diáfisis de un hueso largo, nótanse, en el seno de una materia fundamental transparente, ciertos conductos de forma cilíndrica, de un diámetro variable entre 0'3 y 0'01 de milim. y con una orientación casi paralela con el eje del hueso. Dichos tubos, llamados también conductos de Havèrs, están enlazados por anastomosis más ó menos oblicuas, de lo cual resulta una red de mallas extensas y longitudinales. Comunican los conductos de Havers con la superficie exterior del hueso y con las cavidades de la sustancia esponjosa y medular de la diáfisis. Al llegar á los extremos del hueso, debajo del cartílago articular, los citados conductitos se incurvan, formando entre sí asas anastomóticas.

La red constituída por los tubos de Havers en los huesos cortos es más irregular é incompleta. En los anchos su disposición es irradiada desde el centro del hueso, en donde yacen los más gruesos conductos, hasta las partes periféricas.

Las trabéculas gruesas del tejido esponjoso poseen conductos de Havers, los que rara vez forman red, limitándose de ordinario á poner en comunicación las cavidades inmediatas. Por último, los conductos de Havers faltan en las más delicadas trabéculas de la materia esponjosa y reticular.

Encierran los tubos de Havers, en el estado fresco, un capilar sanguíneo grueso, y algunos elementos medulares (meduloceles). Ciertos histólogos admiten también la existencia de capilares linfáticos, cosa que no nos parece demostrada.

Teniendo en cuenta las transiciones que existen entre los espacios medulares del tejido esponjoso y los más pequeños conductitos de Havers, y recordando que cada uno de éstos fué durante el desarrollo del hueso una verdadera caverna medular, debe concluirse la identidad sustancial de ambas disposiciones: el conducto medular y las cavidades del tejido esponjoso representan conductos de Havers dilatados, y éstos no son más que lagunas medulares atrofiadas. Ampliando este pensamiento, cabe afirmar que el hueso

largo es un enorme sistema de Havers, atravesado y recorrido por otros más pequeños sistemas de igual naturaleza. Hay huesos, especialmente en los vertebrados inferiores (fémur de la rana, cemento del diente de los mamíferos, etc.), que sólo constan del sistema principal.

b.—**Láminas óseas.** Examinando un corte transversal de la diáfisis de un hueso largo desprovisto de sus partes blandas y montado al bálsamo seco, se advierte que la materia fundamental no es homogénea, sino que está dispuesta en estratificaciones que recuerdan las del tronco de un árbol. En la zona periférica del corte, es decir, por debajo del periostio, las laminillas rodean la totalidad del hueso siendo concéntricas á su superficie *(láminas fundamentales externas);* su número es variable según los diversos huesos, y aun dentro de una misma región ósea, siendo por término medio de 20 á 30. En las zonas vecinas del conducto medular, las láminas son también generales y concéntricas al mismo, alcanzando un número ordinariamente menor que las precedentes *(láminas ó sistema fundamental interno.* En los territorios intermedios, ó sea en los comprendidos entre el sistema fundamental interno y externo las láminas se acumulan en torno de los conductos de Havers, formando una estratificación, cuyo grosor y forma general son sumamente variables *(sistema de laminillas de Havers).* (Figura 112).

El conjunto de estas nuevas láminas de materia fundamental constituye un grupo de cilindros sólidos, anastomosados, en contacto por sus límites periféricos, deformados en muchos parajes por recíproca presión y quizás por la neoformación y rectificación de sistemas ocurrida en el curso del desarrollo del hueso.

Aunque lo general es que todo conducto de Havers esté provisto de su sistema de laminillas, no es raro hallar algunos, especialmente entre los que cruzan las láminas fundamentales externas, que carecen de este requisito *(conductos de Wolkmann).* (Fig. 112, d).

En los espacios que entre sí dejan algunos sistemas de Havers, se ve continuar la serie de las laminillas fundamentales internas y externas. Estas estratificaciones se denominan *láminas intermediarias.*

Examinando atentamente un corte transversal de un sistema de

Havers, se nota que las laminillas que lo rodean no son de igual aspecto: unas son oscuras, granulosas; otras claras y como finamente estriadas. Comienza la serie en las paredes del conducto de Havers por una banda clara, sigue por una oscura y así sucesivamente hasta terminar en los confines del sistema por otra raya clara. (Fig. 113).

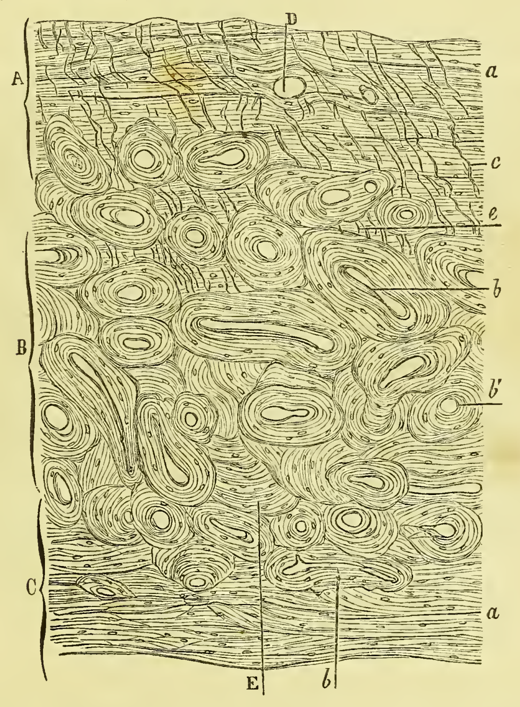


Fig. 112.—Corte transversal del hueso radio.—Calcinación y conservación en bálsamo seco.—A. Láminas fundamentales externas.—B. Sistemas de laminillas de Havers.—C. Láminas fundamentales internas.—*a*, laminillas gruesas; *b*, sistema de Havers cortado á lo largo; *b*, otro cortado al través; D, conducto de Wolkmann; E, restos de sistemas de Havers reabsorbidos; *c* y *e*, fibras de Sharpey.

El espesor de las láminas claras ó hialinas es muy variable. Bajo este aspecto cabe distinguirlas en gruesas ó *limitantes,* y delgadas ó *intercalares.* Las limitantes son más homogéneas, brillantes y esca-

sas que las otras, yaciendo sólo en ciertos parajes, que son: 1.°, en los límites del sistema de Havers, tanto interno (pared del conducto de Havers), como externo; 2.°, entre las láminas intercalares ó delgadas de estos sistemas, separándolas en series concéntricas de vario espesor; 3.°, en el contorno interno (conducto medular) y externo del hueso; 4.°, entre las estratificaciones de láminas fundamentales externas, internas é intermediarias. Como se ve, las láminas limitantes separan ó contornean las diversas formaciones óseas,

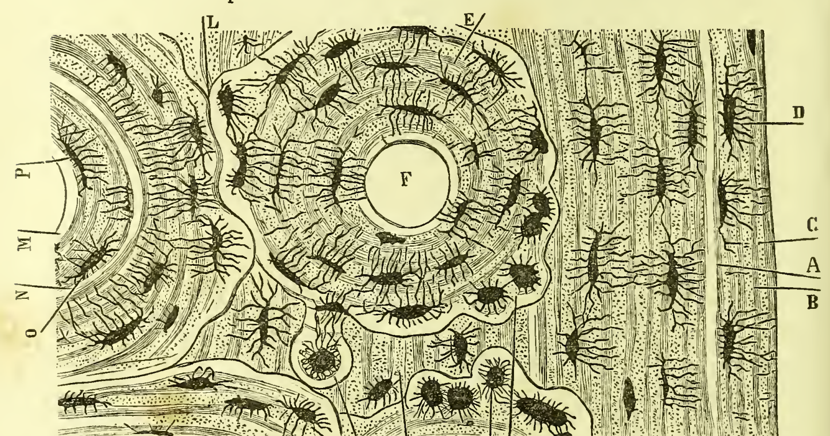


Fig. 113.—Corte transversal de la diáfisis de un metacarpiano.—Inyección de los canalículos con violado de dalia.—Conservación en bálsamo seco.—F. Conducto de Havers de través; á su alrededor se ven láminas estriadas y granulosas concéntricas; H, G, I, osteoplasmas de los territorios neutros periféricos; por fuera de ellos se percibe la gruesa lámina limitante del sistema de Havers. P y O, osteoplasmas de un sistema de Havers. D, otro de un sistema fundamental. A, M y N, láminas hialinas gruesas ó principales. L, linea de contacto de dos sistemas de Havers. J, láminas intermediarias.

y cuando se las halla englobadas dentro de un sistema de laminillas separan verosímilmente dos construcciones laminares de fecha distinta. Lo que caracteriza especialmente á las laminillas limitantes, á más de su mayor espesor y homogeneidad, es la circunstancia de que á su nivel se detienen casi siempre los conductitos calcóforos, bien rematando en fondo de saco, bien torciéndose en asa para unirse á los vecinos del mismo estrato lacunario (*canalículos recurrentes*). Exceptúase la lámina limitante del conducto de Havers, que es muy frecuentemente atravesada por los canalículos.

La textura de las láminas óseas, entrevista por Sharpey, ha sido perfectamente descrita primeramente por Ebner (1874) y después por Brösicke (1882) y Kölliker (1886). Para comprobar esta delicada estructura es preciso utilizar buenos objetivos de inmersión, y examinar de preferencia cortes tangenciales de hueso decalcificado y macerado en una solución salina al 10 por 100. En estas condiciones se perciben en cada lámina unas fibras delgadísimas, apretadas, rectilíneas, muy refringentes y unidas por un cemento más claro y poco abundante. Estas hebrillas pueden marchar independientemente por las láminas; pero más comúnmente se asocian en fascículos de 1 á 3 μ de espesor, que se entrecruzan en ángulos más ó menos agudos. Al nivel de los entrecruzamientos se ven los conductos calcóforos seccionados de través y limitados por delgada membrana hialina. (Fig. 114).

El punteado que ofrecen las láminas oscuras en los cortes perpendiculares á los sistemas ya de Havers, ya fundamentales, se debe á la sección transversal de las fibrillas. Este aspecto granuloso desaparece en los cortes tangenciales de cada sistema, donde únicamente se perciben capas superpuestas de hebras de distinta dirección. Aunque la incidencia de las fibrillas de la capa granulosa varía al infinito, con relación á la dirección de las de la capa hialina, puede afirmarse en general que las hebras de las láminas hialinas son transversales ó circunferenciales al conducto de Havers, mientras que las de la capa granulosa son longitudinales y paralelas al mismo.

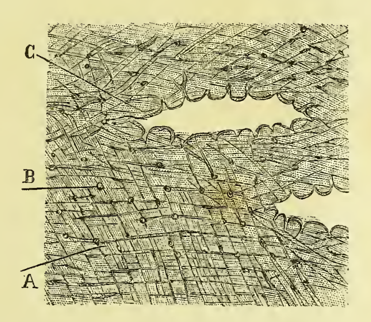


Fig. 114.—Corte tangencial de un sistema de Havers del húmero.—Maceración en sal, previa decalcificación en ácido hidroclórico diluido.—A, fascículos óseos.—B, conducto calcóforo de través.—C, osteoplasma rodeado de su cubierta.

Entre las capas de fibras admite Ebner una tenue lámina de cemento que Kölliker niega, y con razón, pues en realidad lo que hace visibles las láminas no es un cemento separatorio, sino la distinta dirección de sus fibras. Cuando apenas existe contraste en la dirección de las hebras de láminas vecinas, la disposición estratifi-

cada es casi imperceptible. Tal acontece en algunos sistemas de Havers, donde todas las fibras son poco menos que longitudinales ó transversales, así como en ciertos territorios neutros periféricos de los sistemas ordinarios.

Las láminas hialinas gruesas poseen idéntica estructura, siendo sus fibras transversales á la dirección del conducto de Havers. No obstante, la porción más interna de la lámina gruesa que limita el conducto de Havers, así como la parte más externa de la que circunscribe el sistema, exhiben una hialinidad que resiste aun á los más fuertes objetivos.

Todos los detalles precedentes son aplicables á las láminas fundamentales, externas é internas. Las que se muestran granulosas en los cortes paralelos al eje del hueso, contienen fibras transversales, y longitudinales las que aparecen hialinas.

c.—**Lagunas y conductos calcóforos.** Se llaman lagunas óseas ú osteoplasmas unas cavidades de forma ovoidea aplastada, situadas en el espesor de las laminillas. El tamaño de las lagunas es variable, alcanzando por término medio 14 μ de longitud, 7 de latitud y 4 de grueso. Son aplastadas y curvilíneas, adaptándose en su dirección y corvadura á la de las láminas en que yacen, por lo cual exhiben como éstas disposición estratificada. (Fig. 115).

De la periferia de estas cavidades emergen unos conductitos cilíndricos, de 1 μ de espesor, ramificados y anastomosados entre sí, que se llaman conductitos calcóforos. Su dirección es irradiada, marchando en todos sentidos; sin embargo, casi todos ellos pueden reducirse á tres especies: 1.ª, convergentes, que nacen del plano interno (que mira al conducto de Havers) del osteoplasma y terminan en la laguna ó lagunas concéntricas inmediatas; 2.ª, divergentes que, saliendo perpendicularmente del plano externo de la laguna, desaguan en el interno de las situadas en capa más externa; 3.ª, circunferenciales, ó sean los que juntan los bordes de las lagunas yacentes en una misma laminilla. Entre éstos se distinguen los que corresponden á los extremos de las lagunas, por ser gruesos, largos y muy ramificados.

Los canalículos, que están llenos de plasma nutritivo en el hueso fresco, aparecen de color negro en el hueso macerado y seco por consecuencia del aire que los nfiltra. Expulsado éste

por el bálsamo blando, ó las esencias, los conductos calcóforos pierden su aspecto de rayas negras, convirtiéndose en *tractus* pálidos, muy visibles durante su tránsito por las láminas granulosas, pero invisibles ó apenas perceptibles, sobre todo usando medianos objetivos, cuando cruzan los capas hialinas. De aquí el aspecto escaleriforme de las láminas punteadas, y la ilusión de Ranvier, quien tomó los calcóforos de la zona granulosa por fibras de unión entre las capas hialinas inmediatas. (Fig. 115).

Los conductitos convergentes de la primera hilera de osteoplasmas desembocan en el conduto de Havers; los divergentes de la última retornan á menudo, formándose asas para juntarse con los precedentes del mismo estrato. Las lagunas de los estratos límites del hueso (conducto medular y lámina subperióstica), comunican por sus conductos calcóforos con la superficie libre.

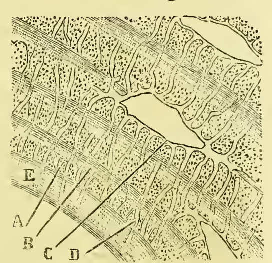


Fig. 115.—Un pedazo de sistema de Havers, incluido en el balsámo blando. — Corte transversal. — E, lámina limitante interna; —B, lámina hialina ó vagamente fibrilar; —A, laminilla granujienta cuyas fibras han sido cortadas de través; —C, osteoplasma envuelto en una cutícula; —Conductos calcóforos á los que el bálsamo presta apariencia homogénea.

Las lagunas y conductos calcóforos están limitados interiormente por una membrana amorfa impregnada de sales, especie de cápsula adherente al resto de la materia fundamental. Dicha película, que Virchow tomó erróneamente por la membrana de la célula ósea, aparece claramente en las preparaciones de hueso seco impregnadas íntimamente de bálsamo, y puede aislarse por disociación de la materia intersticial en cortes de hueso macerado en los ácidos (fig. 115, c.)

En la periferia del sistema de Havers existen unos dentellones de materia ósea, hialina hacia fuera, granulosa hacia adentro, los cuales engranan con cavidades de los sistemas próximos ó con depresiones de las láminas fundamentales é intermediarias. Estos territorios son neutros, es decir, que carecen de estratificación, tanto laminar como osteoplasmática. Las lagunas son grandes, esferoidaes, y están á menudo dispuestas por pares, casi siempre muy próximos, como si procedieran de reciente segmentación. Sus conductitos

calcóforos son más delgados que los ordinarios, y están irradiados en todas direcciones. Por lo común, sólo se anastomosan con los de las lagunas del mismo territorio neutral, poquísimas veces con los de las laminillas subsiguientes, menos aun con los de los osteoplasmas de los próximos dentellones. La mayor parte de ellos se tuercen en asa, volviendo á su punto de partida (fig. 113, G, H).

d.—**Células óseas.** En los cortes de hueso fresco aparecen en el interior de las lagunas unos corpúsculos de talla exigua (de 3 á 7 μ), de forma elipsoidea ú oval, provistos de un núcleo voluminoso y alargado, rodeado por escasa cantidad de protoplasma. Este se acumula de ordinario en los polos del núcleo, formando dos prolongaciones ó espinas que tocan las paredes del osteoplasma. El núcleo es homogéneo ó ligeramente granuloso, y fija difícilmente las materias colorantes de la cromatina. No es posible demostrar nucleolos ni cubierta celular. (Fig. 116).

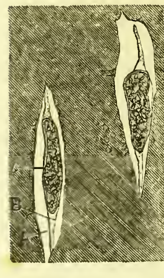


Fig. 116.—Células óseas del fémur de la rana.—Sección tangencial de la diáfisis en estado fresco, coloración en verde de metilo acetificado.—*c*, núcleo.—B, protoplasma.

A manera de célula cartilaginosa, la ósea se retrae en su cavidad en cuanto se pone en contacto con los reactivos. Así que, casi siempre y con preferencia en los huesos de mamíferos adultos, entre la célula y la pared osteoplasmática se advierte un espacio claro lleno por el plasma que recorre los conductos calcóforos, y quizás por el que constituye el enquilema celular. (Figuras 116 y 117).

En el hombre y mamíferos superiores adultos no es posible percibir expansiones celulares insinuadas en los conductitos calcóforos. No obstante, dichas prolongaciones se advierten con la mayor claridad en los huesos embrionarios y en los de ciertos vertebrados inferiores. En los huesos del pleurodelo Waltii, cuyas células son ya fusiformes, ya estelares, se ven apéndices protoplasmáticos ramificarse en su curso, insinuarse por los conductos vecinos y anastomosarse alguna vez con los elementos próximos. Figura 117). En las conchas nasales del conejo de Indias, tratadas por las anilinas en solución ácida sin previa decalcificación, se comprueba una disposición parecida. La célula llena casi todo el osteo-

plasma, y de la periferia del protoplasma, muy poco abundante, emergen tenues cordones que se enfilan por los calcóforos limítrofes. Este mismo método revela en el núcleo una red cromática apretada.

En los huesos adultos las células están en parte atrofiadas, y con frecuencia se ven lagunas donde ó las células no existen ó han quedado reducidas á simples restos no reabsorbidos. Cuando esto sucede, las lagunas frescas aparecen llenas de un gas, que según Klebs es ácido carbónico, el cual no atacaría la materia intersticial calcárea, gracias á la existencia de keratina en la capa limitante de los osteoplasmas (Brösicke).

e.—**Fibras de Sharpey**. Cuando se examina un corte transversal de la diáfisis de un hueso seco decalcificado, se advierten unas fibras largas, flexuosas, que atraviesan perpendicularmente las láminas fundamentales externas y terminan en la superficie de los sistemas de Havers, sin penetrarlos nunca. No es raro verlas ganar las laminillas del sistema intermediario y finar ramificándose en el comienzo de las láminas fundamentales internas. (Fig. 111, c, e).

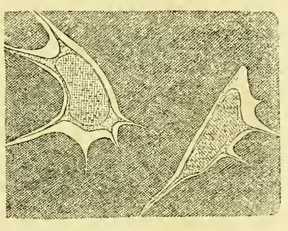


Fig. 117.—Células óseas de una vértebra caudal del pleurodelo Waltii Decal. al ácido pícrico.—Coloración al carmín.

El examen de los cortes de hueso fresco decalcificado, muestra las fibras perforantes de Sharpey con un aspecto semejante al de los fascículos conjuntivos. Además, si se observa su punto de arranque en la superficie ósea se comprueba que se continúan con los haces conectivos del periostio, de cuyas propiedades físicas y químicas participan, al menos, en el principio de su formación.

Las fibras de Sharpey son abundantísimas en los huesos del cráneo, donde forman redes muy tupidas y ricas que llegan hasta la tabla interna, aunque sin atravesar nunca los sistemas de Havers. Esta particularidad depende de que los sistemas de Havers definitivos se desarrollan después que los fundamentales, que son los que encierran las fibras susodichas.

Jamás las fibras de Sharpey contienen osteoplasmas ni conductos calcóforos; en cambio no es raro observar entre sus hebras fibras

elásticas, las que, por otra parte, también pueden hallarse libres en la materia fundamental del hueso.

En los huesos adultos, las fibras perforantes ó de Sharpey carecen de sales calcáreas, como lo prueba el hecho de presentarse á menudo llenas de aire en los cortes de hueso macerado y seco, y más especialmente en los tratados por la calcinación. En los huesos viejos dichas fibras han sufrido un principio de calcificación, recayente, de ordinario, en la materia intersticial que asocia sus fibrillas componentes, rara vez en la totalidad del manojo.

5.—**Caracteres químicos del hueso.** Los huesos secos y macerados constan de dos clases de materiales: *orgánicos* é *inorgánicos.*

Para despojar al hueso de sus componentes orgánicos, no hay más que someterlo á la calcinación; obtiénese por este medio una materia ósea blanca, porosa, extremadamente frágil, que reproduce la forma del órgano. La destrucción de los materiales térreos se logra tratando el hueso por los ácidos diluídos (ácido clorhídrico al cuarto, etc.). Al cabo de algunos dias de acción de estos reactivos el hueso se torna semitransparente, pierde gran parte de su peso y adquiere el aspecto, la elasticidad y la flexibilidad del cartílago hialino *(cartílago óseo).* En este estado todos los detalles de la textura ósea son perceptibles, y algunos, como por ejemplo, las fibrillas de las láminas y las de Sharpey, se descubren mucho mejor. Esto nos indica que ninguna parte de la trama ósea está exclusivamente formada por las sales calcáreas. La calcinación que destruye las sustancias orgánicas tampoco aniquila ninguna disposición de textura, de lo cual debe inferirse que todas las partes del hueso seco están construídas de sales y de materia orgánica *(osteína).*

Ebner (*Ueber den feineren Bau des Knochensubstanz*), Sitzungsber. L. Wiener Ak. Bd. 72. Abf. III, 1875, afirma que las fibrillas de las láminas carecen de sales, las cuales estarían depositadas exclusivamente en la materia interfibrilar y entre las laminillas de fibras, formando el *cemento interlaminar.* Esta opinión ha sido combatida por Kölliker *(Der feinere Bau des Knochengewebes.* Zeitschrift. f. wissench. Zoologie. Bd. 44. S. 644, 1886), con experiencias y razones convincentes. Nosotros hemos repetido estas experiencias llegando á resultados análogos.

Es cierto, como Ebner afirma, que los cortes de hueso calcinados aumentan de opacidad, lo cual se debe á la penetración de nueva cantidad de aire;

pero esto no prueba que los nuevos huecos abiertos en el hueso correspondan á las fibrillas laminares destruídas. Un examen comparativo de muchas preparaciones conservadas en bálsamo seco, demuestra que en las calcinaciones ligeras nada cambia de la textura del hueso, y en las prolongadas los resquicios y huecos que se abren adoptan las formas más variables y caprichosas, unas veces en retículo que parte de los conductos calcóforos, otras en líneas cortas y gruesas que se cruzan en variadas incidencias, otras en puntos, pero nunca según la forma y dirección de las fibras laminares. Estos nuevos espacios de aire cambian poco de aspecto cualquiera que sea la incidencia de los cortes, mientras que si reprodujeran la orientación de las fibrillas, veríanse fasciculados y entrecruzados en los cortes tangenciales á los sistemas, y en estratos alternativamente estriados y punteados en los perpendiculares á éstos. A nuestro juicio, los nuevos conductitos y puntos, ocasionados por la calcinación, no representan una textura real cualquiera, sino que son simples resquicios y fracturas fraguadas en la materia ósea por la salida de los gases de la combustión de la osteína.

La hipótesis de Ebner es el resultado de un prejuicio teórico. El hecho de que las fibras de Sharpey no están calcificadas, le ha sugerido la idea de que tampoco lo están las fibrillas conectivas del hueso. La anatomía comparada, lejos de venir en apoyo de esta aserción, nos muestra por todas partes fascículos conjuntivos osificados (tendones de las patas de las aves, etc.).

La *osteína* es una materia orgánica, que, bajo la influencia de la ebullición, se transforma en gelatina, lo mismo que la colágena del tejido conectivo. Las materias inorgánicas están tan íntimamente unidas á la osteína que el microscopio más potente no puede denunciarlas, al revés de lo que sucede con la infiltración calcárea del cartílago, donde las sales se hacen aparentes bajo la forma de granos y de grumos refringentes.

Las proporciones en que se halla la osteína con las sales, así como la naturaleza de éstas, aparecen claramente en el siguiente cuadro analítico de Berzelius:

Sustancia orgánica.	Materia animal reducible por la cocción.	32,17	33,30
	Materia irreductible.	1,13	
Sustancia mineral..	Fosfato de cal.	51,04	66,70
	Carbonato de cal.	11,30	
	Fluato de cal..	2,00	
	Fosfato de magnesia.	1,16	
	Sosa y clorhidrato de sosa.	1,20	

La cantidad de las sales varía algo en los diferentes huesos. Rees ha demostrado que las proporciones oscilan entre 54,51 (omoplato) y 63,50 por 100 (temporal). La cantidad de las sales con relación á la osteína varían poco según la edad. Contra la opinión de Bichat, Frerich, Bibra, etc., que pensaban que las sales aumentan en proporción de la edad, Nélaton y Sappey han puesto en claro que la materia orgánica y la inorgánica constituyen una combinación de proporciones definidas. Estos autores han hallado que la sustancia orgánica va disminuyendo desde la niñez á la edad de la consistencia para aumentar después con la vejez, lo que dependería, no de una alteración de las proporciones de la osteína y sales, sino del aumento que en la primera y última edad de la vida tienen las partes blandas del hueso (trama vascular sobre todo), en aquélla por neoformación, y en la última por rarefacción ósea. Este incremento accidental de materias orgánicas se suma siempre á la osteína en la determinación de las proporciones por el peso.

El análisis de los huesos frescos añade á los mencionados componentes una notable cantidad de agua y una proporción no menos importante de grasa. Según Wolkmam, un hueso fresco humano encierra *agua*, 50; *grasa*, 15,75; *osteína*, 12,40; *sales*, 23,85.

6.—**Propiedades fisiológicas del tejido óseo.**—La función desempeñada por este tejido, deriva de la dureza de su materia fundamental que le presta condiciones para formar las palancas transmisoras del movimiento y las cajas contentivas y protectoras de las vísceras más nobles. Para cumplir tal cometido era preciso que la dureza estuviese asociada á cierta elasticidad y cohesión, sin las cuales el menor choque podría lastimar la integridad de las partes protegidas, determinando fracturas. El agua y la materia orgánica dan al hueso su elasticidad y flexibilidad, las sales su dureza y resistencia; de lo que se sigue que el incremento de las últimas aumentará la fragilidad, y su disminución la flexibilidad de los huesos (osteomalacia).

La nutrición del tejido óseo se explica fácilmente recordando su riqueza de capilares y las conexiones que con los conductos de Havers ó con la superficie general del hueso tienen los canalículos calcóforos. El plasma que se escapa del capilar se infiltra por la primera fila de conductitos calcóforos, ganando por capilaridad

las lagunillas óseas inmediatas, y desde éstas, de hilera en hilera, llega hasta las más lejanas. Como pocas veces sucede que los conductos calcóforos de un sistema se comuniquen con los de otro vecino, puede decirse que el hueso entero está dividido en territorios nutritivos aislados, cuya vida y alteraciones dependen del estado del conducto y del capilar que los fecunda. Sucede á veces en los huesos viejos que las células que rodean el capilar depositan nuevas capas de materia fundamental, obliterándose muchos de los conductitos que en él desembocan: en tal caso las lagunas se angostan y las células degeneran y mueren.

7.—**Desarrollo del hueso.** El tejido óseo es una formación secundaria acaecida en el seno de otros tejidos, el cartilaginoso y el fibroso. Su aparición tiene lugar tardíamente, en ocasión en que los demás órganos y tejidos están casi del todo construidos.

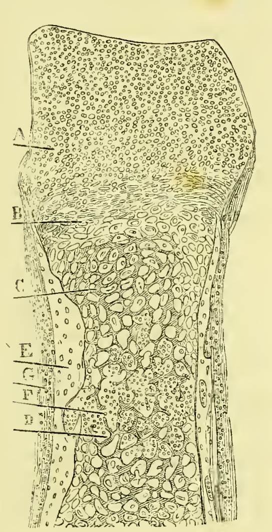


Fig. 118.—Corte longitudinal de la mitad superior de un metacarpiano de feto humano de 5 meses.—A, cartílago de la epífisis.—B, zona de proliferación.—C, zona de los grandes condroplasmas.—D, cápsulas abiertas é invadidas por los corpúsculos medulares.—F, células de la médula.—G, periostio.—E, hueso periostal.

El proceso de la osificación no tiene lugar simultáneamente, sino sucesivamente y en sitios de preferencia, constantes para cada hueso, que se denominarían *puntos de osificación*. Los puntos de osificación pueden recaer en el esqueleto cartilaginoso *(osificación endocondral)* y en ciertas membranas fibrosas *(osificación periostal)*. La mayor parte de los huesos se originan por la asociación de estas dos formaciones (periostal y endocondral). Sólo los de la bóveda craneal y algunos huesos de la cara dejan de pasar por la fase cartilaginosa, convirtiéndose directamente sus células conjuntivas en corpúsculos óseos.

En realidad, estas dos variantes de osificación no son procesos distintos, sino condiciones diversas en que tiene lugar un fenómeno, esencialmente uno, á saber: secreción de una materia fundamental calcificada, y englo-

bamiento secundario de las células embrionarias secretoras; sólo que en los cartílagos el proceso se complica por la reabsorción de la sustancia cartilaginosa que debe preceder á la producción del nuevo tejido.

a.—**Formación endocondral.** Cuando se examina un corte longitudinal de un hueso largo en vías de osificación (por ejemplo, un metacarpiano de perro ó gato recién nacido), se advierte que el centro de la diáfisis está ahuecado por multitud de cavidades irregulares donde se depositan capas de materia ósea, mientras que los extremos ó las epífisis muestran todavía la sustancia cartilaginosa casi normal. En los territorios comprendidos entre las partes osificadas de la diáfisis y el cartílago normal de la epífisis, se ven varias zonas de transición que representan en realidad las fases que ha de recorrer cada porción de cartílago para transformarse en hueso. A pesar de las muchas gradaciones con que se enlazan y confunden, cabe distinguir las fases siguientes: 1.ª, *zona de proliferación*; 2.ª, *zona de las células seriadas*; 3.ª, *zona de los grandes condroplasmas;* 4.ª, *zona de los espacios medulares primordiales.* (Fig. 119).

Zona de proliferación. Las primeras señales que anuncian la próxima osificación del cartílago es un ligero aumento del volumen de las células y una multiplicación activa de las mismas. Abundan en estos parajes elementos con dos núcleos, cápsulas que contienen dos células y grupos de tres ó cuatro tanto más numerosos, cuanto más nos aproximamos á los puntos osificados. En los corpúsculos situados en los límites de la zona siguiente, es de notar cierto aplanamiento de los mismos, paralelo al plano de osificación. En los gruesos cartílagos vense también algunos vasos que dimanan del pericondro, barrenando acá y allá la zona proliferativa. En los pequeños huesos de la mano y del pie, rara vez se encuentran capilares.

Zona de las células seriadas. Las familias celulares, que en el territorio anterior rara vez pasaban de cuatro elementos, ahora constan de seis, ocho y hasta veinte ó más; pero no en desorden, sino en forma de serie alargada, cuya dirección es perpendicular al plano de osificación y paralela al eje del hueso. Los elementos de la serie alcanzan una estatura cada vez mayor, llegando al doble de su tamaño originario (18 á 20 μ). En cambio se aplastan en di-

rección transversal á la serie, no pasando su espesor de 3 á 4 μ. La aproximación de las células es tal que se deforman por recíproca presión, apareciendo (en los cortes paralelos á la fila corpuscular) con una figura cuadrilonga, con extremos biselados, que recuerda la forma de los cartílagos tarsos. Los elementos de los extremos de la serie que no sufren tanto los efectos de la compresión, se presentan á la manera de lentes plano-convexas. Las series se constituyen evidentemente por la segmentación directa de las células, ocurrida las más veces en el sentido del eje mayor de las mismas, aunque también puede efectuarse según un plano oblicuo ó paralelo al eje de la serie, como lo muestra la frecuente presencia en el seno de la hilera corpuscular de parejas de elementos más ó menos imbricados por sus bordes. La materia fundamental aumenta entre las series de células, con especialidad en los puntos donde concurren ó terminan dos ó tres hileras. En torno de cada serie se advierte como un limbo general vagamente limitado del resto de la sustancia intercelular, que representa la cápsula del elemento cuyas divisiones sucesivas han originado la pila celular.

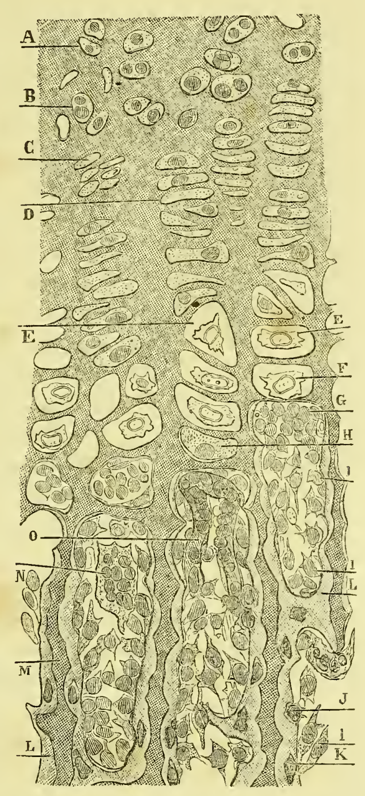


Fig. 119.—Cartílago osificante de un metacarpiano de perro recién nacido.—Decalcificación al ácido pícrico.—Coloración á la purpurina.—A y B, células cartilaginosas en vías de proliferación.—C y D, cartílago serial.—E y F, zona de los grandes condroplasmas y de las células atrofiadas.—H, célula brillante, como keratinizada.—G, N, I, O, J, muestran elementos de las lagunas medulares.—G, células embrionarias indiferentes.—I, I, osteoblastos.—J, un osteoblasto semienglobado.—K, otro ya empotrado del todo.—O, asa capilar.—L, materia ósea depuesta.—M, trabécula cartilaginosa subsistente.—N, osteoclasto.

Zona de los grandes condroplasmas. Esta es la capa que pre-

cede á la aparición de las lagunas medulares. Presenta también series, en su mayor parte continuación de las anteriores, pero con algunas diferencias dignas de notarse. Los condoplasmas han aumentado enormemente de volumen, así en el sentido transversal como en el longitudinal. Las cápsulas aparecen gruesas, brillantes, bien limitadas por los lados de la materia intercalar, pero menos distintamente de las cápsulas de las células tangentes. El ahuecamiento de los condroplasmas (cuyo diámetro transversal oscila entre 20 y 30 μ), parece haberse efectuado principalmente á expensas de la materia fundamental interserial, la cual ha disminuído notablemente de espesor, constituyendo ahora trabéculas refringentes de bordes festoneados que se prolongan hasta los espacios medulares. Estas tiras se denominan *trabéculas cartilaginosas directrices*. En la porción más próxima á los espacios medulares son estas trabéculas, así como los intersticios que separan las cápsulas de cada serie, asiento de un depósito granuloso de sales calcáreas. Esta calcificación es transitoria, independiente de la sedimentación calcárea definitiva, que ocurrirá más adelante en la fase de los espacios medulares.

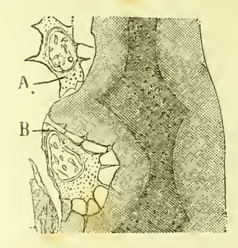


Fig. 120.—Una trabécula cartilaginosa considerablemente aumentada. A sus lados se ven dos zonas de materia ósea. —A, osteoblasto sin englobar. —B, osteoblasto con prolongaciones en parte sumergidas en la materia segregada.

Por parte de las células, los cambios no son menos interesantes. Han perdido su virtud proliferativa por una suerte de agotamiento vital, acaso explicable por la concurrencia nutritiva de la enorme masa de elementos neoformados, y por el alejamiento, cada vez mayor, de las fuentes circulatorias del pericondro. Jamás se ven elementos con dos núcleos ó con otras señales, que son barrunto de próxima división. Las cápsulas en que se encuentran alojadas no parecen ser de formación reciente, sino las mismas de las anteriores zonas, profundamente modificadas por un movimiento á la vez de dilatación y de reabsorción, cuyo foco se halla en el territorio de los espacios medulares inmediatos. Cuanto al protoplasma, pierde sucesivamente su opacidad y aspecto granuloso, su aptitud de colorarse por el carmín y hematoxilina, reduciéndose á una masa

diáfana, como vítrea, arrugada en el interior de la cápsula. El núcleo se atrofia, pierde su cromatina, y queda reducido á una membrana hialina más ó menos plegada, que envuelve un líquido transparente ó ligeramente granuloso. Tales cambios demuestran que las células cartilaginosas son asiento de una degeneración comparable á la transformación vítrea ó hialinosis de ciertos elementos patológicos, ó á la formación kerática de los corpúsculos malpigianos. Nada indica en estas células la conservación de su vitalidad y jamás se ven en ellas fases proliferativas.

Durante este proceso de decaimiento celular la materia fundamental experimenta también algunos cambios. Las fibras permeables, que en las zonas indiferentes van de cápsula á cápsula irradiando en todos sentidos, en la región proliferativa se disponen en su mayor parte perpendicularmente al plano de osificación. Entre las células seriadas, ó sea en las trabéculas que separan los canutos de corpúsculos, dichas fibras se dirigen transversalmente á las series, uniendo lateralmente los festones capsulares. Todas estas fibras, pero especialmente las últimas, abundan en las zonas subpericondrales del cartílago en osificación, siendo muy raras en los territorios profundos.

Puede suceder también que las fibras permeables sean poco ó nada visibles y que no se presenten exactamente lo mismo en todos los cartílagos en osificación.

Zona de los espacios medulares. Por debajo de la zona anterior cambia bruscamente el aspecto del cartílago. Los tabiques delgados que separaban entre sí los grandes condroplasmas de las series celulares degeneradas han desaparecido, formándose unos trayectos anchos, cavernosos (en comunicación recíproca por ciertas brechas abiertas en los tabiques de separación), que muestran todavía en sus contornos las concavidades correspondientes á los extremos de los condroplasmas demolidos. Contienen estos huecos *(espacios medulares)* multitud de pequeñas células, nada semejantes á las cartilaginosas, que yacen casi en mutuo contacto, separadas por una materia fundamental líquida y transparente. Alcanzan una estatura que oscila entre 7 y 11 μ; poseen forma variable, dominando la estelar y la fusiforme, y encierran un núcleo esférico que llena gran parte del cuerpo celular. En el eje del espacio medular existe un

capilar que forma un asa, cuyo vértice se aproxima ó toca al último tabique intercelular de la serie cartilaginosa situada por encima. La reabsorción sucesiva de los tabiques limítrofes amplía cada vez más los espacios medulares. El crecimiento del asa capilar no parece ser ajeno á esta distensión. Es curioso sorprender, en ciertas zonas, cómo el capilar se fragua un agujero en el tabique próximo y cómo las células embrionarias oprimen el protoplasma de la célula cartilaginosa degenerada, empujando sus restos á la periferia condroplasmática, donde muchas veces se los ve como un limbo de granulaciones incoloras. En ciertos puntos, la última célula cartilaginosa degenerada, batida de cerca por el choque sanguíneo y por el trabajo de los corpúsculos medulares, es asiento de una transformación curiosa: pierde su aspecto hialino, tornándose fuertemente refringente y como córnea; su núcleo no puede percibirse y en su protoplasma aparecen infinidad de gránulos colorables en rojo por el carmín. Estos cambios, ¿representan acaso una degeneración eleidígena de las células cartilaginosas? No es fácil decidirlo, aunque tenemos por más probable que tal metamórfosis sea alguna variedad de esa degeneración gránulo-grasienta que precede con frecuencia al acto de la reabsorción. De todos modos, bueno será decir que son escasos los corpúsculos que llegan á tal estado, pues casi todos son abordados y destruídos por los capilares y las células conectivas en aquella fase de anemia ó de *hialinosis* más atrás mencionada.

Osteoblastos (fig. 120). Los elementos embrionarios que llenan con el capilar los espacios medulares, segméntanse activamente y engendran varias razas de células: las *células adiposas*, los *corpúsculos de Neumann*, los *osteoclastos* y *osteoblastos*.

Se llaman *osteoblastos* (Gegenbaür) ciertas células pequeñas, de forma poliédrica más ó menos alargada, que yacen sobre los bordes festoneados de los espacios medulares, donde forman una capa periférica incompleta de aspecto epitelial. Examinados con buenos objetivos de inmersión, revelan un núcleo rico en cromatina y un protoplasma turbio, escaso y erizado de finísimas expansiones, particularmente en la faceta con que tocan las trabéculas directrices.

Los osteoblastos son los encargados de la producción del hueso. A este fin, comienzan por segregar una capa de materia funda-

mental que rellena en parte las depresiones de los espacios medulares. En cuanto la capa tiene algún espesor, algunos de los osteoblastos secretores cesan en su actividad, mientras que los corpúsculos vecinos continúan el trabajo de sedimentación. Por consecuencia de esto, los elementos paralizados quedan empotrados en la materia fundamental, y las bajas sufridas en la capa de osteoblastos son cubiertas por los corpúsculos medulares inmediatos. En el seno de la materia orgánica depositada quedan moldeados en hueco los cuerpos celulares (osteoplasmas), así como sus numerosos apéndices (conductos calcóforos). Más adelante el magma gelatiniforme segregado (compuesto verosímilmente de osteína) se impregna de sales calcáreas; las trabas directrices se engruesan á favor de nuevas sedimentaciones y el conducto medular se angosta, comprendiendo solamente el capilar central y algunos escasos osteoblastos. Esta cavidad tubular será ulteriormente el conducto de Havers.

Examinando cortes transversales de huesos jóvenes, donde el proceso osteogénico esté casi terminado, notaremos los conductos de Havers, todavía muy anchos é irregulares, rodeados de una materia fundamental vagamente estratificada, en cuyo seno habitan algunas células óseas dispuestas en hileras discontinuas y concéntricas. En los puntos de confluencia de los contornos de estos sistemas de Havers embrionarios, llaman la atención ciertos espacios macizos, de forma triangular en las secciones transversales, y extendidos en cintas festoneadas en los longitudinales. Estas cintas, que son los restos calcificados de las trabéculas cartilaginosas, danse á conocer también por su refringencia distinta de la de la sustancia ósea, y por teñirse menos que ésta por el carmín y la hematoxilina, aunque más por la purpurina.

Osteoclastos (fig. 119, N). Durante este trabajo de edificación se realiza otro de demolición y reabsorción. Entre las células medulares primitivas se distinguen ya algunas de gran tamaño, fuertemente granulosas, provistas de varios núcleos. Éstas son los osteoclastos. La mayor parte yacen sobre el depósito de materia ósea que cubre las trabéculas, en unas fosas que parecen debidas á su trabajo destructor. No es raro verlos como á caballo en los extremos de una trabécula que pugnan por desgastar, para ampliar sin duda los espacios medulares. En resumen; mientras los osteoblastos constru-

yen ciegamente el material óseo, los osteoclastos ensanchan, corrigen y modifican la arquitectura general.

El origen de los osteoblastos es uno de los puntos más controvertidos de la Histología, Müller *(Ueber die Entwickelung der Knochensubstanz*, etc. Zeitschrift f. wissensch. Zoologie. T. IX, 1858), afirma que las células medulares, y por tanto los osteoblastos, son descendientes de las cartilaginosas puestas en libertad por la destrucción de las cápsulas. A esta opinión se adhieren entre los histólogos modernos Ranvier (*Traité technique d' Histologie*), Orth *(Cursus der Normalen Histologie,* 1886), etc. Los histólogos antiguos, como Henle (1841), Bidder (1843), Virchow (1850), Remak (1852), Kölliker (1852), etcétera, sostenían también el origen cartilaginoso de los osteoblastos.

Por el contrario, Rollet *(The conective Tissues.* Manual de Stricker tr. ingl. 1872), Stieda *(Die Bildung des Knochengewebes)* 1872, Frey (*Traité d' Histologie et Histochimie,* 1877), Klein *(Nouveaux éléments d' Histologie,* 1885), Stöhr, *(Lehrbuch der Histologie*, etc., 1887), etc., etc., afirman que los osteoblastos dimanan de los elementos periósticos, arribados á los espacios medulares con los primeros vasos. Con tal manera de ver el proceso de la osteogénesis, resulta fundamentalmente idéntico en todas las partes óseas: la célula conectiva subperióstica, ya directamente (hueso periostal), ya tras emigraciones más ó menos largas (hueso endocondral), elabora siempre la materia orgánica destinada á calcificarse.

La ausencia de multiplicación en los elementos cartilaginosos de la zona próxima á la línea de osificación; el aspecto degenerado como agostado de los mismos, y la falta de transiciones entre ellos y los pequeños y vivaces corpúsculos medulares, nos inclinan á adoptar la opinión antecedente, que es, dicho sea de paso, la que cuenta con más partidarios.

Ignóranse las condiciones generadoras de la reabsorción de los tabiques intercelulares y de la producción de los espacios medulares. Los corpúsculos de la médula, dice Loven, son los encargados de esta función, por una suerte de ulceración y reabsorción subsiguiente de los tabiques sobre que se aplican. Podría también imaginarse que la perforación de las cápsulas corre á cargo de pequeños osteoclastos, acompañantes del asa capilar en su incremento hacia las células seriadas. El mecanismo de la destrucción podría comprenderse bien, suponiendo que estos osteoclastos segregan, á semejanza de las células pépsicas, un ácido y una diastasa, aquél para disolver las sales y ésta para reblandecer la condrina de los tabiques.

Es indudable que en este proceso de reabsorción tienen gran influencia los capilares, que, como ya hemos dicho, no faltan nunca en los espacios medulares, y se aplican sobre la bóveda de éstos como empujando por su cre-

cimiento centrífugo los tabiques intercapsulares. No creemos, sin embargo, como afirma Ranvier, que de ellos dependa todo el trabajo de reabsorción, ni que de la dirección de los capilares resulte la orientación de los espacios medulares. De admitir esto último se reconocería un hecho posterior, como causa de un fenómeno anterior, pues la seriación cartilaginosa es fenómeno que precede con mucho á la formación del asa capilar, á menos que no se piense, lo cual nos parece excesivo, que desde el momento en que las células cartilaginosas inician su proliferación, están sufriendo ya la influencia directriz de los vasos. Á nuestro modo de ver, si los vasos crecen en el sentido de las cápsulas abiertas, es porque en tal dirección encuentran menos resistencia que en las demás, siendo las trabéculas cartilaginosas directrices para ellos, poco menos que insuperable obstáculo. No de otro modo crecen los vasos en los demás tejidos, sorteando siempre los elementos anatómicos é insinuándose en los intersticios flojamente tabicados por materias amorfas.

b.—**Formación periostal.** Simultáneamente, á los fenómenos que acabamos de mencionar, se suceden otros de índole parecida en la cara profunda del pericondro. Esta membrana, al nivel de la parte media de la diáfisis, se engruesa y aparece compuesta de dos capas: una superficial, constituída por fascículos casi paralelos de tejido conjuntivo entremezclados de células embrionarias; y otra profunda, análoga á la capa de osteoblastos de los espacios medulares del cartílago, formada en gran parte por células poliédricas provistas de numerosos apéndices protoplasmáticos.

Esta zona, denominada *capa formatriz, capa osteoplasmática*, etc., es la que segrega la materia ósea por un mecanismo idéntico al ya descrito anteriormente. Una vez depositadas algunas estratificaciones, los capilares del pericondro ó periostio vegetan en el espesor del material óseo, llevando consigo gran número de corpúsculos embrionarios y algunos osteoclastos. Ábrense de esta suerte, por un trabajo paralelo de reabsorción y crecimiento, multitud de espacios medulares, que se ramifican y anastomosan, y en donde la materia ósea va poco á poco concretándose. Examinando atentamente la ganga que separa los elementos embrionarios, tanto en los dichos espacios medulares como en las zonas profundas del periostio, percíbense multitud de delicadísimas fibras, laxamente entrelazadas, y acá y allá fascículos conjuntivos gruesos. Estos fascículos aparecen en ciertos parajes del periostio

dirigidos ya oblicua, ya perpendicularmente á las zonas osificadas. La deposición de los materiales calcáreos, al estrechar las lagunas medulares y empotrar los osteoblastos, engloba también las delicadas fibrillas conectivas, así como los gruesos fascículos. Aquéllas engendran la trama fibrilar, y éstos las llamadas fibras perforantes ó de Sharpey. (Fig. 121).

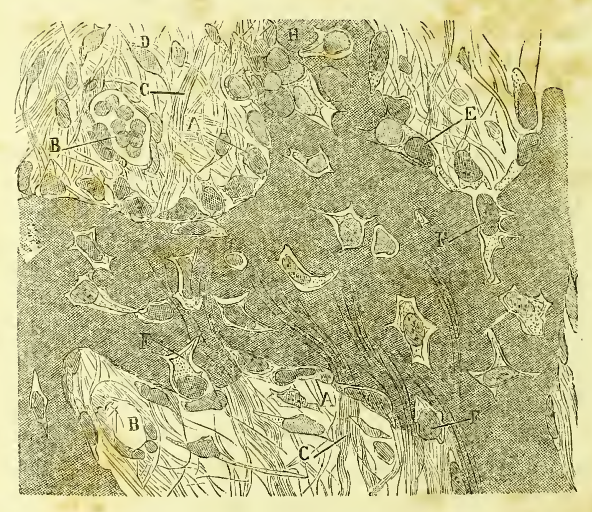


Fig. 121—Corte transversal del hueso parietal decalcificado de un perro recién nacido. Las partes grises representan el hueso, y los espacios claros el periostio y sus prolongaciones.—A, osteoblasto.—B, capilar cortado de través.—C, fascículo conjuntivo del periostio.—D, célula conectiva fusiforme.—E, osteoblasto medio englobado.—F, otro más profundamente emparedado.—(Se ven en muchos puntos los fascículos conjuntivos penetrar en el hueso para formar las fibras de Sharpey, y en H, se muestran varias de éstas seccionadas de través.)

La formación perióstica se distingue de la endocondral, porque al nivel de su contacto se halla una zona hialina separatoria, probablemente formada de sustancia cartilaginosa. Sucede á veces, que los espacios de ambas formaciones periostal y endocondral se ponen en comunicación. Llama entonces la atención el contraste de los elementos que los pueblan. Las células de los trayectos endocondrales son casi todas poliédricas, gruesas, abundantísimas y fuertemente tingibles por el carmín. Entre ellas apenas son visibles algunos pocos filamentos conectivos. Las células de los conductos

medulares periósticos son escasas, la mayor parte fusiformes, con un cuerpo algo abultado por el núcleo y dos largos apéndices protoplasmáticos. Las hay también estelares, pero siempre más pálidas y menos colorables que las endocondrales. Entre ellas yace una trama tupidísima de fibras y fascículos. En los puntos donde las células periostales y endocondrales se tocan, no se confunden ni existen transiciones de disposición.

c.—**Osificación en el seno del tejido conectivo** (fig. 121.) Hay huesos, como ya dijimos anteriormente, que no son nunca cartilaginosos, convirtiéndose directamente de fibrosos en óseos (huesos de la bóveda craneal, los de la cara, excepto el vómer y la concha inferior, huesos del oído, etc.). Repítense aquí los fenómenos fundamentales de la osificación periostal. Iníciase el proceso por la formación de redes capilares en el seno de la materia conectiva. Las células conjuntivas proliferan y constituyen cerca de los vasos, siguiendo en cierto modo su trayecto, una capa de osteoblastos que depositan osteína. Así quedan formados los primeros espacios medulares y constituído un núcleo óseo, que crece en todas direcciones, porque por todas partes le rodean los osteoblastos.

Un corte de un parietal de gato ó perro recién nacido, muestra claramente las fases ulteriores de la osificación. El periostio tapiza por ambos lados la lámina ósea, y en él se ven las dos capas fibrosa y osteoblástica. De la superficie profunda del periostio brotan prolongaciones vasculares penetrantes en el espesor del hueso, las que á veces se enlazan con las provenientes del opuesto lado. En los espacios que rodean estos capilares vense también fibras y fascículos conjuntivos, entremezclados de células fusiformes y estelares, así como la capa osteoblástica incompleta en íntimo contacto con el hueso. Un examen atento muestra todas las fases de englobamiento de los osteoblastos y de las fibras conjuntivas (fig. 121, E, F). Los corpúsculos englobados son estelares, enviando por los conductos calcóforos apéndices que se anastomosan con las células próximas, ya empotradas, ya á medio empotrar. En ciertos parajes se ve que las lagunas óseas están constituídas por la separación de fascículos conjuntivos englobados y cortados de través (H).

Mezclados á los osteoblastos, se encuentran en muchos puntos de la superficie general y del espesor de las láminas óseas algunos

osteoclastos. Yacen casi siempre al nivel de depresiones, más ó menos profundas, que se han llamado *lagunas semilunares de Howship*.

d.—**Modificaciones ulteriores sufridas por el hueso**. Hemos dicho que los huesos largos poseen dos formaciones óseas: una central, nacida en el seno del cartílago de la diáfisis, que va extendiéndose hacia las extremidades; y otra periférica, desarrollada á expensas y por debajo del periostio. Añadamos, para completar nuestro estudio, que en el curso de la evolución, el hueso endocondral crece continuamente hacia el cartílago epifisario, y como éste es asiento de una proliferación activa serial en el sentido del eje óseo, el hueso aumenta continuamente en longitud. Llega un tiempo en que la osificación, siempre creciente hacia los extremos, invade ya casi toda la epífisis, deteniéndose sólo cerca de la articulación donde reserva una capa cartilaginosa destinada á ser el cartílago articular.

La capa periostal, en tanto, se extiende á toda la superficie ósea, revistiendo de delicada película la epífisis y deteniéndose al nivel del cartílago articular.

Algo después, el hueso endocondral de la diáfisis se reabsorbe, así como las capas más profundas de la formación periostal, originándose el conducto medular y las cavidades del tejido reticular de los huesos largos. La construcción endocondral persistirá solamente en la sustancia esponjosa de las extremidades.

A medida que los osteoclastos destruyen y los vasos absorben las capas periostales del centro de la diáfisis, nuevas capas se depositan bajo el periostio, lo cual explica el crecimiento de los huesos en espesor. Las partes de la diáfisis que la reabsorción ha respetado, constituirán las láminas fundamentales é intermediarias del hueso adulto. Su disposición en estratos concéntricos atribúyese á la deposición sucesiva y regular de material óseo debajo de la capa osteogénica general. Por igual mecanismo, las prolongaciones periósticas penetrantes en la trama ósea acompañando á los capilares, engendran las laminillas de los sistemas de Havers. Si el depósito de capas llega hasta el mismo capilar, fórmase el tejido compacto; si éstas son menos numerosas, y se conserva en parte la disposición anfractuosa primitiva, prodúcese el tejido esponjoso.

La reabsorción ósea no se limita sólo á las partes centrales del hueso, sino que recae á menudo en las partes periféricas, es decir, debajo del periostio. Frecuentemente, un lado del hueso es asiento de depósitos calcáreos, y el otro, teatro de un desgaste, tanto más activo cuanto más numerosos son los osteoclastos que lo determinan. Así es como se ensanchan las cavidades craneal y torácica; así es como se esculpen eminencias y depresiones, atribuídas erróneamente en otro tiempo á la influencia de las presiones de los órganos blandos.

Como acabamos de ver, el modelamiento definitivo del hueso es un hecho complejo, debido á la acción concurrente de muchas causas, pero principalmente á la aparición de nuevas capas y á la reabsorción simultánea de las formaciones primitivas. Estas son las condiciones más aceptadas hoy por los histólogos, desde los trabajos y experiencias interesantes de Duhamel y Flourens. El crecimiento y retoque intersticial, invocado por Havers, Wolckmann, Wolff y otros, tiene positiva influencia, pero sólo en la enmienda y perfeccionamiento de ciertos detalles arquitecturales. Uno de los elementos de esta labor de detalle es sin duda, como Strelzoff ha hecho notar, la actividad secretoria de las células óseas, las cuales continúan depositando entre las lagunas materia intersticial, con lo que, la masa total de los sistemas de Havers y fundamentales, así como su forma, pueden sufrir importantes modificaciones. Este trabajo secretor de la célula ósea es evidentísimo en los corpúsculos periféricos neutros de los sistemas de Havers, en torno de los que hemos visto muchas veces verdaderas cápsulas calcáreas, así como señales de reciente división.

8.—**Preparación del hueso.**—*Osteoplasmas y conductos calcóforos.*—Uno de los métodos mejores y más expeditos consiste en incluir en el bálsamo del Canadá seco, es decir, privado de su esencia, cortes convenientemente afilados y pulidos de huesos macerados. Para los detalles del manejo del bálsamo y de la obtención de los cortes de hueso, véase la técnica en las páginas 122 y 115. Este proceder muestra perfectamente los conductitos y lagunas, que aparecen negras por estar llenas de aire, pero no evidencia con igual claridad las laminillas de Havers. Para poner de manifiesto ambas cosas, aconsejamos el método siguiente:

Una sección de hueso, bien afilada en la piedra, se abandonará en una solución alcohólica saturada de violado de dalia. El corte con el líquido se colocará en un vidrio de reloj, á fin de que el alcohol se evapore rápidamente. Cuando el corte está seco se desgasta nuevamente (en agua) por ambas caras hasta despojarle del exceso de color; se deja secar, previo lavado en agua destilada, y se le da transparencia en la esencia de bergamota. La preparación se concluye montando el corte (todavía impregnado de esencia), en el bálsamo de Canadá seco recién derretido. La inclusión en la resina damar, disuelta en bencina, es también de recomendar, pues no disuelve el violado de dalia. No obstante, nosotros preferimos el bálsamo seco, pues que la preparación queda dura y manejable inmediatamente de terminada.

Ranvier propuso un proceder de teñido de las secciones de hueso en que se utilizaba el azul de anilina, y el corte se conservaba en la glicerina salada; pero estas preparaciones se decoloran con el tiempo, y las laminillas óseas no se revelan con el rigor y limpieza que las conservadas en bálsamo. En los preparados obtenidos según nuestro proceder, los conductos calcóforos aparecen teñidos de violeta intenso, así como los de Havers y lagunillas, mientras que las laminillas, que se presentan incoloras, consienten la más neta percepción de su textura, gracias á la esencia de bergamota que las penetra y transparenta.

Demostración de la textura laminar.—Puede conseguirse fácilmente por el siguiente método, debido á Ebner: Comiéncese por diluir en su volumen de agua destilada una solución saturada de sal común, en cuyo líquido se abandonarán los trozos de hueso destinados á la decalcificación. Para disolver las sales calcáreas, se añadirán al líquido, sucesivamente y por varios días, gotas de ácido clorhídrico, hasta que los huesos se tornen flexibles, constituyéndose lo que se ha llamado el *cartílago óseo*. Entonces se lavan prolijamente en agua corriente y se sumergen en una solución salina igual á la anterior, pero sin ácido, hasta que la pieza haya perdido su acidez, resultado que se obtendrá más seguramente alcalinizando ligeramente con amoníaco el licor salino. Los cortes, que deben ser muy delgados y tangenciales al hueso, se examinarán en agua destilada ó en la misma solución salina. La disociación de las fibrillas se logrará dislacerando los cortes con las agujas ó rascando las secciones longitudinales óseas con el filo de un escalpelo.

Este proceder puede simplificarse del modo siguiente, sin que los resultados nos parezcan inferiores. Un corte conveniente desgastado de hueso seco, se deposita en un vidrio de reloj que contenga agua con algunas gotas de ácido clorhídrico. A los pocos minutos el corte ya decalcificado se lava muchas veces con agua destilada, y se deja macerar por algunas horas en la solución salina al 10 por 100. La observación del preparado, así como la conservación del mismo, se efectuarán en este mismo licor.

Fibras de Sharpey. Uno de los mejores métodos que pueden utilizarse para evidenciarlas, es el que acabamos de describir. Es preciso que los cortes sean perpendiculares á la diáfisis de un hueso largo, y que muestren de preferencia las láminas fundamentales externas. Serán útiles también los cortes perpendiculares á los huesos del cráneo, que, por ser de origen exclusivamente fibroso, contienen muchas fibras perforantes.

Para obtener las fibras de Sharpey aisladas ó semiseparadas de las láminas que atraviesan, no hay más que desgarrar con las agujas un corte decalcificado. No es raro encontrar láminas desprendidas que llevan clavadas todavía algunas fibras perforantes. La continuidad de estas fibras con el periostio se demostrará fácilmente examinando huesos frescos decalcificados, preferentemente los del cráneo en vías de desarrollo (cabeza del perro ó gato de pocos días).

Kölliker propone el siguiente medio de coloración de las fibras de Sharpey: Cortes de cartílago óseo, obtenidos por cualquiera proceder de decalcificación, son tratados por algunos minutos por el ácido acético concentrado; colócanse luego por medio minuto en una solución de carmín de índigo en ácido oxálico, y, por último, se lavan en agua destilada y conservan en glicerina. Las fibras de Sharpey aparecen de rosa pálido, y de azul claro la materia fundamental ósea.

Hay otro medio de demostración de las fibras de Sharpey que proporciona preparaciones muy demostrativas. Es sabido que estas fibras no están calcificadas ó si lo están lo son imperfectamente. Por consiguiente, si se destruyen las partes orgánicas del hueso, bien por la ebullición prolongada, bien por la calcinación, todo resto de fibras habrá desaparecido, y el lugar que ellas ocuparon aparecerá lleno de aire y con vigoroso contraste. La calcinación, (á la que nosotros debemos excelentes preparaciones), se practica depositando una lámina bien seca y afilada de hueso sobre una cápsula de platino calentada al rojo por la llama de gas ó de alcohol. El corte óseo se volverá negro en seguida, pero á los pocos minutos emblanquecerá: entonces es cuando debe trasladarse con cuidado (es sumamente frágil) á un porta-objetos, donde se montará en preparación persistente con ayuda del bálsamo seco, recién derretido por el calor. Las fibras de Sharpey se mostrarán negras, así como las lagunas y conductitos, sobre fondo incoloro.

Fibras elásticas.—Se demostrarán en los cartílagos óseos tratándolos, bien con bases enérgicas (sosa y potasa en solución concentrada), bien con los ácidos. Ebner aconseja un método de coloración con la fuchina que da bastante buenos resultados. Consiste en abandonar por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, en una solución muy tenue de fuchina, cortes delgados de cartílago óseo.

Células óseas.—Las células óseas pueden examinarse en estado fresco, para lo cual se tomarán delgados pedazos de concha nasal de rata ó de cone-

jo indiano, que se examinarán en el licor salino indiferente, previo desprendimiento de la mucosa y periostio por que están revestidos. Asimismo cabrá utilizar pequeños cortes practicados paralelamente á los huesos frescos con una navaja de filo duro. El estudio del núcleo se facilitará mucho, sometiendo estos cortes á la acción de una solución acetificada de verde de metilo. El carmín y la hematoxilina no obran bien sino después de fijadas las células por el alcohol.

Las células óseas podrán estudiarse también en los cortes de hueso fresco decalcificado por el ácido pícrico, crómico, etc. La coloración se efectuará en la purpurina, la zafranina, con sujeción á las reglas que luego indicaremos.

Desarrollo del hueso.—El examen debe recaer sobre huesos decalcificados y convenientemente indurados. He aquí el proceder de decalcificación más recomendable:

En una solución saturada de ácido pícrico se dejarán macerar por algunos días trozos de huesos en vías de desarrollo. Se preferirán con este fin los metacarpianos y metatarsianos de feto humano de cinco meses en adelante, los huesos del cráneo, de la mano y pie del conejo, perro, gato, etc., recién nacidos ó de pocas semanas. Se tendrá cuidado de observar el líquido diariamente y de mantenerle á saturación, agregándole un sobrante de cristales de ácido pícrico. Cuando la decalcificación sea completa, se trasladarán los huesos al alcohol absoluto, que se mudará durante dos ó tres días hasta completa deshidratación; luego se tratarán por cuarenta y ocho horas en una mezcla de éter y alcohol, y por último, se impregnarán por varios días en celoidina siruposa. La pieza se pegará con la misma celoidina á la superficie de un corcho y se someterá todo junto á la induración en el alcohol flojo. Los cortes microtómicos, que deben ser longitudinales en los huesos largos, se recogerán en el agua, se teñirán en la zafranina, se decolorarán en el alcohol absoluto y se lubrificarán en esencia de bergamota para montarlos en el bálsamo disuelto en cloroformo ó xilol.

Por este proceder, la sustancia fundamental del cartílago adquiere color naranja; la intersticial ósea, rosáceo, y rojo intenso, los núcleos. Puede también aprovecharse para el teñido de estos cortes la hematoxilina ó el carmín. El primer agente colora algo la celoidina, por lo cual convendrá extraerla de los cortes, bien tratándolos con la esencia de clavo, bien con la mezcla etero-alcohólica.

Los huesos decalcificados pueden también indurarse por el proceder clásico de la goma y alcohol, y teñirse por el picrocarminato ó hematoxilina, pero los resultados no son tan brillantes.

CAPÍTULO XII

TEJIDO DENTARIO

1.—**Def.** Este tejido es una forma histológica caracterizada por la presencia de una materia fundamental orgánico-calcárea, surcada por multitud de conductitos irradiados que contienen plasma y apéndices de ciertas células alargadas de la pulpa. Esta definición, que se refiere al marfil por ser la parte fundamental del diente, nos hace ver que entre este tejido y el óseo existen notables analogías. El diente, como el hueso, encierra canalículos y células; pero, á diferencia del hueso, el tejido dentario no contiene en su trama la totalidad de los cuerpos celulares, sino una parte de ellos, quedando el resto apartado en el interior de la cavidad central, que representa un espacio medular ó de Havers. Es, pues, el diente en cierto modo un hueso disociado: muestra en un lado las partes duras, los materiales segregados *(marfil)*, y de otro las partes blandas ó los elementos secretores *(odontoblastos)*. Esta disociación se explica fácilmente por la especial manera con que se produce el material orgánico calcáreo (véase desarrollo dentario).

La presencia del marfil caracteriza los *dientes llamados óseos*, extendidísimos entre los vertebrados; pero existen también en la serie animal apéndices dentarios, en que la papila ó sustancia medular está simplemente recubierta de epitelio córneo *(dientes córneos)*. Pero cualquiera que sea la variedad dentaria, siempre hallaremos dos cosas: papila conjuntiva osificada ó sin osificar, y revestimiento epitelial transformado (esmalte, células córneas). Por tanto, el diente no viene á ser más que una papila dermoidea hipertrofiada y sólidamente protegida.

2.—**Distribución y división.** El diente consta del *marfil, cemento* y *esmalte*. El *marfil* reside en los órganos dentarios del hombre y la mayor parte de los vertebrados, constituyendo también el esqueleto de los peces óseos. El *cemento* es una producción ósea

añadida al diente por el periostio *alvéolo-dentario*, y el *esmalte* representa un barniz vítreo segregado por elementos epiteliales embrionarios. Interiormente, el diente ofrece, como los huesos largos, un conducto central lleno de un tejido medular, llamado pulpa dentaria, en continuación con el exterior por un agujero nutricio (agujero del vértice de la raíz) puerta de entrada de los vasos y nervios. (Fig. 122).

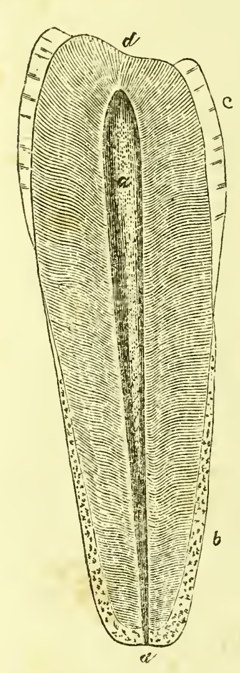


Fig. 122.—Corte longitudinal de un incisivo; *a*, abertura inferior del diente; *b*, cemento; *d*, marfil; *c*, esmalte.

Ocuparémonos sucesivamente de estas diversas partes, á excepción del esmalte, ya descrito anteriormente.

3.—**Marfil.** Es una materia dura, brillante, amarillenta, que forma la casi totalidad del diente. Contiene en su espesor multitud de conductos (canalículos del marfil), que, naciendo en la superficie de la cavidad dentaria, se dirigen perpendicularmente hacia la periferia, rematando, en la corona, debajo del esmalte, y, en la raíz en la zona profunda del cemento. (Fig. 123, A.)

El trayecto de los canalículos es onduloso, trazando en su curso dos ó tres grandes curvaduras que, por estar en todos ellos á un mismo nivel, producen el efecto de bandas ó líneas cuando el diente se examina á débil amplificación *(líneas de Schreger)*. Aparte de estas inflexiones, existen otras más pequeñas y numerosas en tirabuzón ó hélice.

El arranque de estos tubos en la cavidad dentaria mide por término medio 1 $^1/_2$ á 2 μ; pero este diámetro disminuye sucesivamente por consecuencia de las numerosas ramitas que aquéllos suministran, reduciéndose cerca del cemento á menos de un μ. Los ramúsculos colaterales son tenuísimos (algunos miden menos de 0'2 de μ) y se anastomosan con los de los tubos inmediatos.

Entre los tubos del marfil yace una materia fundamental transparente, sólida, homogénea á flojos aumentos, como fibrilar bajo

potentes objetivos. Con frecuencia se la ve constituída por estratos concéntricos á la papila dentaria, limitados por bandas brillantes y hialinas. En ciertos dientes, Owen ha descrito unas líneas concéntricas á la corona, de aspecto granuloso *(líneas de contorno de Owen)*, las cuales no se deben confundir con las anteriores.



FIG. 123.—Trozo de un corte transversal de la raíz de un diente. Muestra el cemento en F, y el marfil desde A hasta C.—E, zona granulosa ó interglobular secundaria. — D, zona de los globos de la dentina.—Conservación del diente en bálsamo seco.

El examen de los cortes tangenciales del marfil de un diente embrionario decalcificado, nos muestra algunos detalles de textura que recuerdan la composición de las laminillas óseas. Los conductitos del marfil aparecen seccionados de través y dispuestos en hileras longitudinales, tanto más regulares cuanto más joven es el diente. Entre estas series de agujeros, distínguense gruesos haces de fibrillas, cuya dirección es paralela al eje dentario. Los conductitos calcóforos, que yacen precisamente entre los hacecillos, se presentan revestidos por tenue película hialina. Dicha cubierta, conocida con el nombre de *vaina de Neumann*, puede aislarse de la materia fundamental con ayuda de los ácidos.

De la disposición expresada, parece verosímil deducir que el marfil representa, por comparación con un sistema de Havers, la capa más interna de éste, que, como es sabido, se compone de hacecillos longitudinales más ó menos entrecruzados, con la sola modificación de que en el diente esta capa ha adquirido considerable desenvolvimiento. De esta suerte, quedan los conductos del marfil asimilados á canalículos calcóforos, de los que se distinguen principalmente por contener, además del plasma nutritivo, una expansión protoplasmática de las células de la pulpa *(fibras de Tomes)*.

En algunos peces y roedores, el marfil está provisto de vasos *(vaso-dentina* de Owen).

Los tubos del marfil cesan en la periferia en cuanto llegan al cemento ó al esmalte. Debajo del cemento, entre éste y el marfil, hállanse unos corpúsculos redondeados, brillantes, sólidos, dispuestos en varias capas apretadas é irregulares. Estas esferas, que por su forma han tomado el nombre de *globos de la dentina,* son verdaderas aglomeraciones de sustancia fundamental. Entre ellas se perciben, además, unos espacios angulosos, de bordes arqueados, de tamaño vario, donde suelen rematar las últimas ramitas de los tubos de marfil *(espacios interglobulares, red lacunaria del cemento, capa granular de Purkinje).* Pequeños conductos ó resquicios irregulares que contornean los globos, establecen comunicación entre las lagunas y en ocasiones con los canalículos del cemento. (Fig. 123 c.)

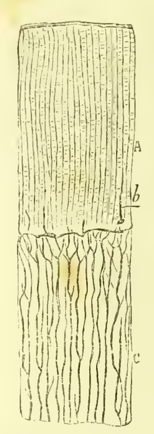


Fig. 124.—Trozo de un corte longitudinal del esmalte en su unión con el marfil. — A, prismas del esmalte; *b*, laguna llena de aire donde remata un tubo de marfil.—C, tubos del marfil.—Diente macerado conservado en bálsamo seco.

En algunas preparaciones, además de la antedicha zona lacunaria interglobular, se perciben otras dos: una de más finos globos y lagunillas, situada por fuera de la anterior, y separada de ella por una faja hialina, con estriaciones que parecen ser restos de tubos del marfil semiobstruídos *(red lacunaria secundaria)* (v. fig. 123 e), y otra, situada en el curso mismo de los tubos del marfil, constituída por grandes lagunas y gruesas esferas *(espacios interglobulares de Czermak).* Estas últimas cavidades, mucho más inconstantes que las anteriores, son triángulos esféricos ampliamente comunicantes entre sí y con los tubos de marfil, los que, después de abordarlas por su cara profunda, continúan por la opuesta hasta llegar á las inmediaciones del cemento.

El contenido de todos estos sistemas de lagunas es, verosímilmente, plasma procedente del circulante por los tubos de marfil. Algunos autores han descrito en ciertos espacios interglobulares células óseas; nosotros no hemos podido confirmar su presencia.

La citada red lacunaria no existe debajo del esmalte. Los tubitos llegados á la periferia de este tejido se dicotomizan abundantemente, cesando en la misma superficie del esmalte por fondos de

saco ó por anastomosis arciformes. A veces se prolongan por entre los prismas concluyendo en fondo de saco (fig. 124, b).

4.—**Cemento.**—Es una capa de materia ósea que recubre la raíz dentaria en toda su extensión. Comienza debajo de la corona por una cutícula delgada, exenta de osteoplasmas, y engruesa poco á poco conforme va revistiendo porciones más bajas de la raíz. Su espesor varía mucho en los diversos dientes, siendo por lo regular escaso en los dientes temporarios, donde faltan con frecuencia los osteoplasmas, y llegando al máximum (dos ó tres milímetros) en los permanentes y avejentados.

La materia fundamental del cemento está dispuesta en zonas concéntricas al marfil, recordando en un todo la configuración de un sistema de Havers. Estas láminas se distinguen también en claras y oscuras y unas y otras constan de fibras de osteína entrelazadas. (Fig. 123, F.)

Los osteoplasmas faltan en las capas delgadas de cemento, pero abundan en las gruesas. Su disposición general es también estratificada como la de las lagunillas óseas. No obstante, se separan de éstas por algunas particularidades: son más irregulares en forma y orientación; sus conductitos calcóforos son más finos, abundantes y tortuosos, y las anastomosis entre ellos y con los de los osteoplasmas vecinos mucho menos frecuentes. Los osteoplasmas de la fila más profunda reciben radículas de la red lacunaria y finos ramitos de algunos tubos del marfil; los situados en el plano más superficial se comunican, aunque pocas veces, con la superficie ósea.

No existen, sino excepcionalmente, en el cemento conductos de Havers.

Los osteoplasmas contienen células idénticas á las óseas. En cuanto á los canalículos que recorren el cemento, no está averiguado si, á más del plasma que los lubrifica, que toman probablemente del periostio alvéolo-dentario, contienen menudos apéndices protoplasmáticos.

5.—**Pulpa dentaria.** Así se llama el tejido conectivo blando pulposo que llena la cavidad central de los dientes. La pulpa consta de dos capas: central ó propiamente conjuntiva, y periférica ú odontoblástica.

La *capa ó región central* forma casi toda la pulpa y encierra fascículos conectivos, células fusiformes, vasos y nervios. Los haces colágenos son apretados y contienen fibrillas muy finas y pálidas: su dirección es en gran parte paralela al eje dentario, disponiéndose en gruesos estratos en torno de los vasos gruesos. Los corpúsculos conectivos adoptan una forma varia, dominando la fusiforme con un cuerpo abultado por el núcleo y dos expansiones polares sumamente largas (de 20 á 30 μ) y extremadamente delgadas.

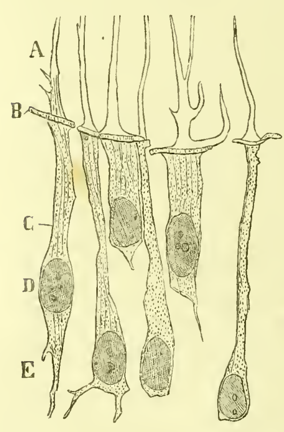


Fig. 125.—Grupo de odontoblastos de un diente joven de perro, disociados á favor de las agujas y del bicromato de potasa diluido.—A, fibra pálida que se insinúa por los tubos del marfil.—B, chapa brillante.—C, cuerpo celular ligeramente estriado.—D, núcleo.—E, prolongación profunda.

Dirígense estas células casi paralelamente á los haces, á cuya superficie se moldean en parte. Los vasos penetran por la abertura inferior del diente y se consumen en la pulpa, constituyendo una red de anchas y longitudinales mallas.

Odontoblastos. La región periférica de la pulpa forma una membrana de aspecto epitelial, cuyos elementos han tomado el nombre de *odontoblastos*. Son estos corpúsculos células conjuntivas transformadas, de figura alargada, de talla gigante (50 á 60 μ de longitud por 4 á 8 de grueso) y perpendicularmente enclavadas en la superficie del marfil por finas expansiones alojadas en los canalículos.

El cuerpo de estas células es prismático, espeso unas veces, delgadísimo otras á manera de fibra, y se conexiona, mediante un cemento blando y escaso, con el de los vecinos elementos. Su protoplasma, áspero y turbio, deja percibir una red de mallas longitudinales apretadas. El núcleo elipsoide, casi tan grueso como el cuerpo celular; yace ordinariamente en el extremo profundo algo abultado del odontoblasto. (Véase la fig. 125).

El extremo ó polo inferior de los odontoblatos, se prolonga con frecuencia en apéndice ramificado por entre los elementos conjuntivos de la capa subyacente, con los que no parece anastomo-

sarse. El polo superior, de espesor variable (fig. 125), está guarnecido por una placa hialina brillante, que ofrece la particularidad de sobresalir como los gavilanes de una espada, de la superficie general del protoplasma. De la cara superficial de esta chapa tangente al marfil arrancan uno ó varios apéndices de una materia hialina que se insinúan por los canalículos del marfil. Estos apéndices, llamados también *fibras de Tomes,* son ligeramente estriados á lo largo, gruesos en su arranque, delgadísimos en su terminación, que no suele pasar, al menos en los dientes embrionarios, de la mitad del trayecto del canalículo; disposición análoga á la que ofrecen las expansiones de los osteoblastos que tampoco llenan, cuando existen, la totalidad de los conductitos calcóforos. Los bordes laterales de la placa tocan los de las limítrofes, constituyendo todas una lámina continua debajo del marfil. Por debajo, la chapa mencionada se continúa con la cubierta del odontoblasto de la que, en último análisis, no es más que simple engrosamiento. Los odontoblastos más delgados carecen frecuentemente de chapa, continuándose sus extremos superiores casi sin transición con la fibra del marfil, atravesando por entre las vecinas placas.

Debajo de esta primera hilera de elementos existe otra, aunque no tan apretada. Los cuerpos de estas nuevas células son cilindroides y se dirigen también perpendicularmente al marfil. De sus lados, y preferentemente de sus polos, surgen expansiones ramificadas: las procedentes del extremo exterior salen al encuentro de las descendentes de los odontoblastos, pero no parecen anastomosarse con ellas.

6.—**Caracteres químicos del tejido dentario.** Consta el marfil como el hueso de sustancias inorgánicas y orgánicas. La principal de éstas es una materia análoga á la *osteína,* susceptible de dar cola por la cocción. Entre las inorgánicas figura en primer término el *fosfato de cal* unido á débiles proporciones de *fosfato de magnesia* y *carbonato de cal.* He aquí el análisis de Bibra:

Sustancia fundamental colágena.	27,65
Grasa.	0,40
Fosfato de cal y fluoruro de calcio. . . .	66,72
Carbonato de cal.	3,36

Fosfato de magnesia.	1,08
Diversas sales.	0,83

El adjunto cuadro nos muestra que el marfil contiene menos materias orgánicas y carbonato de cal que el tejido óseo, pero más fosfato de cal.

7.—**Propiedades fisiológicas.** El diente se nutre por las dos fuentes sanguíneas del periostio alvéolo-dentario y de la pulpa. Los plasmas del periostio penetran hasta las zonas profundas del cemento á través de los canalículos, nutriendo de paso los corpúsculos óseos, y comunicándose, á favor de los espacios interglobulares, con el líquido que llena los conductos del marfil.

El esmalte y el marfil carecen de propiedades vitales, y los cambios nutritivos, así como los fenómenos de sensibilidad que el diente experimenta, deben referirse exclusivamente á la actividad de los odontoblastos y corpúsculos periósticos.

8.—**Desarrollo del tejido dentario.** En el feto humano aparece el rudimento dentario desde el segundo mes de la vida intrauterina. La mucosa que recubre el maxilar embrionario se engruesa, formando, al nivel de lo que con el tiempo vendrá á ser la encía un reborde más ó menos elevado *(muralla gingival),* detrás del que existe un canal. Este reborde suministra hacia abajo prolongaciones cilindroides, formadas exclusivamente por el epitelio bucal, las que, profundizando en el tejido del maxilar, y distribuyéndose con cierta regularidad, originan lo que se conoce con el nombre de *gérmenes del esmalte.* Las células situadas en la periferia de estos cordones son prismáticas, apretadas, continuación de las constituyentes de la capa más profunda del epitelio bucal, en tanto que las colocadas en el eje de los mismos son poliédricas irregulares y dimanan de los estratos inmediatos de la mucosa. Más adelante, el germen epitelial se engruesa por abajo y crece en profundidad, mientras que el pedículo que le sostiene, en continuidad con el epitelio bucal, se estrangula cada vez más hasta adquirir la forma de un delgado cordón de células epiteliales apretadas y poco aparentes. Este cordón, llamado por algunos *gubernaculum dentis,* ofrece muchas variantes de forma y disposición; unas veces se presenta fraccionado otras arrollado con flexuosidades helicoides, otras con abultamien-

tos de células; pero en todo caso conserva su enlace con el germen epitelial hasta una época muy adelantada del desarrollo dentario. (Fig. 126.)

a.—*Origen de la papila y odontoblastos.* Mientras tanto el tejido conjuntivo embrionario situado debajo del germen del esmalte crece en forma de papila, empujando la capa epitelial inferior y obligando á la bolsa ú organo del esmalte á adoptar la disposición del fondo de una botella. La papila encierra en un principio numerosos elementos pequeños, esferoidales ó fusiformes, separados entre sí por escasa cantidad de materia homogénea semilíquida. Salvo ligeras variantes se mantendrá esta composición en las capas centrales del cono papilar, pero no en las periféricas, donde las células se alargan, vuélvense fusiformes, se disponen en hilera y ofrecen un extremo periférico dirigido perpendicularmente al órgano del esmalte, y otro central grueso (por contener el núcleo) insinuado entre los corpúsculos subyacentes. Tales células serán las encargadas de la secreción del marfil *(odontoblastos de Gegenbaür).* (Fig. 126 y 127).

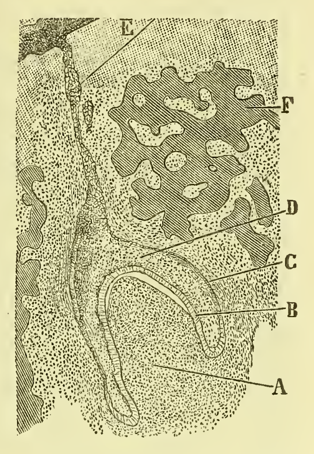


Fig. 126.—Corte de un folículo dentario del maxilar de un perro recién nacido.—A, papila.—B, hoja interna del órgano del esmalte.—C, hoja externa del mismo.—D, zona intermedia transparente, cuyas células se han transformado.—E, puente de unión del órgano del esmalte, con el epitelio bucal.—F, sustancia ósea.

Llegado á este período evolutivo, el germen dentario se compone de: 1.º, una vesícula epitelial cerrada (órgano del esmalte); 2.º, una papila conjuntiva rodeada de odontoblastos y alojada en la foseta que, por su cara profunda, ofrece el germen del esmalte; y 3.º, de una cubierta conjuntiva total que tapiza por arriba el germen del esmalte y se continúa por abajo con la base de la papila (véase fig. 127).

b.—*Formación del marfil.* Constituída ya alrededor de la papila la capa de los odontoblastos, adviértese en los extremos periféricos de éstos una eminencia á manera de espina, que no es otra cosa

que la fibra de Tomes en estado rudimentario. Entre estas fibras, y por consiguiente por fuera de la hilera de odontoblastos, se depone una materia amorfa brillante, fuertemente colorable por el carmín y las anilinas, que no es otra cosa que la dentina primitiva. Esta capa, llamada por algunos autores *membrana preformativa,* aparece primeramente en lo alto de la papila y gana después las partes laterales é inferiores; gelatinosa al principio, se torna después sólida por la deposición de sales calcáreas.

Depuesta la materia ebúrnea entre las fibras de Tomes, éstas quedan englobadas y sus moldes constituyen los canalículos del marfil, por igual mecanismo que se engendran los conductitos calcóforos del hueso. El proceso de la osificación se distingue de la formación ebúrnea, en que, á diferencia de las células óseas que suspenden su actividad secretoria, siendo englobadas merced á la materia segregada por las subyacentes, los odontoblastos persisten siempre en su función y no pueden ser emparedados.

A medida que la sedimentación ebúrnea aumenta de espesor, los odontoblastos se ven obligados á estirar sus apéndices para no perder sus relaciones con los canalículos. Con todo, este crecimiento de las fibras de Tomes tiene su límite, llegando un tiempo en que quedan estacionarias, aun cuando la sedimentación calcárea continúe. Esto es lo que se comprueba en los cortes longitudinales del diente en evolución, donde las expansiones odontoblásticas apenas sobrepasan la mitad de la longitud de los tubos del marfil.

c.—*Formación del esmalte.* Cuando la capa del marfil alcanza dos ó tres décimas de milímetro, se inicia en lo alto de la corona la construcción del esmalte. A la sazón, el órgano del esmalte es una bolsa epitelial, que forma una caperuza completa á la papila y se compone de tres hojas: *externa, interna* é *intermedia.* (Fig. 127, D, E y H).

La externa, bastante precisa y determinada por abajo, es decir, cerca de su continuación con la interna, adquiere hacia arriba cierta desigualdad y un aspecto como conectivo. Un análisis detallado revela que está formada por una sola hilera de células aplanadas irregulares, reforzada por fuera por la yuxtaposición de gran número de elementos y hacecillos conjuntivos. Esta capa no contribuye á la construcción del esmalte y desaparece antes de la erup-

ción del diente, confundiéndose con los elementos conjuntivos del alvéolo.

La capa epitelial interna es el órgano productor del esmalte. Recubre íntimamente la superficie del marfil, al principio en toda su extensión, más adelante solo en la porción correspondiente á la corona. Consta dicha capa de una sola hilera de elementos delgados, prismáticos, provistos de un núcleo que yace cerca del extremo periférico de los mismos. En el momento en que comienza la secreción del esmalte aumenta el tamaño de estas células (20 á 24 μ de longitud por 6 ó 7 de grueso). El núcleo se retira cada vez más hacia el cabo periférico, y el extremo central se cubre de una chapa brillante de vario espesor. Debajo precisamente de esta chapa, entre ella y la periferia del marfil, se deposita la primera formación adamantina. Aparece primero en lo alto de la corona, y se extiende después por los lados para terminar en delgadísima capa al nivel del cuello dentario. La materia del esmalte es brillante, refringente y se tiñe en naranja por el picrocarminato. Está constituída por prismas exagonales, cada uno de los que se relaciona por su extremo periférico con el extremo central de una célula epitelial. En el punto en que se tocan los prismas y las células, presentan éstas al nivel de la cara externa de la placa una eminencia hialina, más ó menos irregular, que encaja en una foseta piramidal, de que está provisto el extremo de cada prisma adamantino.

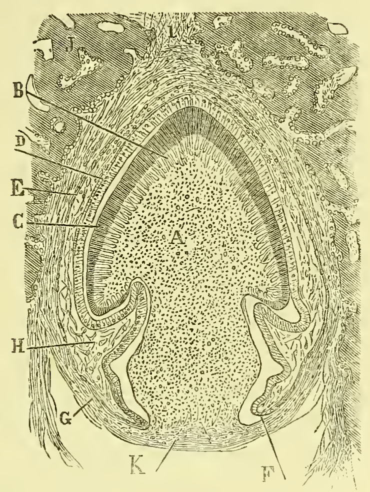


FIG. 127.—Corte vertical de un folículo dentario del perro recién nacido.—A, papila dentaria.—B, capa de odontoblastos.—C, capa de marfil segregada por éstos.—D, hoja interna del órgano del esmalte (entre ella y el marfil aparecerá la primera sedimentación del esmalte.)—E, hoja externa, apenas perceptible, del órgano del esmalte.—H, hoja intermedia de dicho órgano, cuyas células son estelares, como conjuntivas.—F, punto continuación de la hoja interna con la externa.—G, pared conjuntiva del folículo que formará el periostio alvéolodentario.—K, cara inferior del folículo libre en una cavidad llena de liquido.

Examinando atentamente en diversas preparaciones la conexión del epitelio con el esmalte, se adquiere la convicción de que cada prisma es el producto, no de la transformación *in situ* de los corpúsculos del órgano adamantino, sino de la secreción de una serie de chapas que, por sucesiva calcificación y perfecta adherencia, constituyen un todo coherente. La cretificación invade primero la materia interplacular, continuación de la intercelular del epitelio, gana después la parte periférica del prisma en formación y se extiende, por último, á la parte central de éste. A esto se debe indudablemente la existencia de las fosetas anteriormente mencionadas: el material hialino que las llena, continuación de la placa celular, es lo que resta sin calcificar de la última sustancia segregada por las células epiteliales. La yuxtaposición sucesiva de placas que van poco á poco calcificándose, explica también el aspecto transversalmente estriado de los prismas del esmalte; cada estría marca probablemente la unión entre dos capas sucesivamente elaboradas. La última chapa, algo más gruesa que las demás, engendra quizás la cutícula, formación que algunos explican por la condensación y cretificación del epitelio mismo.

La capa intermediaria del órgano del esmalte la forman las células transformadas que llenan el espacio comprendido entre las dos hojas interna y externa. Dichos corpúsculos son desde luego asiento de modificaciones que recuerdan las sufridas por los elementos notocórdicos. Aparecen primero entre ellos ciertas vacuolas llenas de un líquido transparente que, aumentando sucesivamente en cantidad oprime las células, obligándolas á retraerse y despegarse, menos por ciertos puntos donde conservan indefinidamente sus adherencias. El incremento de las vacuolas y la retracción excesiva de las células da al conjunto el aspecto de los elementos estelares anastomosados del tejido mucoso. El núcleo deja de teñirse por los reactivos de la cromatina, concluyendo por desaparecer. El protoplasma se torna hialino, y aparece formado por fibras brillantes refringentes, como keratinizadas, que se continúan con las emanadas de los corpúsculos vecinos. Tales anastomosis representan probablemente las hebras comunicantes del epitelio bucal (recuérdese que los epitelios pavimentosos están unidos por hilos irradiados), que han logrado resistir al proceso degenerativo. Esta transformación se inicia en los

elementos centrales de la hoja intermediaria é invade poco á poco los periféricos. No obstante, por fuera de la capa interna obsérvase siempre una ó dos hileras de células alargadas como imbricadas que resisten al proceso degenerativo. Tal vez estos corpúsculos estén destinados á enriquecer los de la capa secretora del esmalte, conforme éste va aumentando en circunferencia, cosa tanto más verosímil cuanto que, es bien sabido, hay más prismas en las capas exteriores que en las interiores del tejido adamantino.

En el momento de la erupción la capa intermediaria, así como la interna, recubren todavía la corona del diente; pero no tardan en destruirse en contacto con el aire, dejando el esmalte al descubierto.

d.—*Formación del cemento.* Como consecuencia del replegamiento del órgano del esmalte hacia arriba, donde cubre solamente la corona del marfil, la porción inferior de éste, que representa la raíz del diente, se pone en contacto inmediato con la membrana fibrosa peridentaria *(folículo dentario, periostio alvéolo-dentario).* Esta membrana representa exactamente el periostio, tanto bajo el punto de vista histológico como funcional, y sus células profundas, que circuyen el marfil constituyendo una capa discontinua de osteoblastos, engendrarán el material óseo del cemento, según el mecanismo descrito con ocasión de la osteogénesis.

Preparación del tejido dentario.—*Osteoplasmas y canalículos.* El método preferible será la inclusión de un corte de diente en bálsamo del Canadá privado de su aceite esencial. El manual operatorio es igual al descrito en las páginas 122 y 490. Aquí haremos solamente algunas advertencias. En el diente seco suelen practicarse dos clases de cortes: los longitudinales y los transversales. Estos últimos, si recaen en la raíz, pueden ejecutarse con la sierra pelo de relojero, tratándoselos en un todo como las secciones de hueso macerado. Pero si se trata de cortes longitudinales ó axiales que comprendan el esmalte, no basta la sierra ordinaria, y hay que apelar para obtener el corte, bien á una sierra de agua y esmeril, bien al desgaste en totalidad, ejecutado por las dos caras opuestas del diente sobre una piedra de asperón. La sección grosera lograda de este modo, deberá ser adelgazada después en la piedra pómez y pulida en una piedra fina de afilar. Es de advertir, para el mejor desempeño de esta maniobra, que los dientes secos y macerados tienen á menudo resquebrajaduras que se evidencian en el curso del desgaste, inutilizando la preparación. Por esta razón, son de recomendar los dientes fres-

cos, pues su mayor elasticidad los hace mucho más resistentes á las violencias del frote. En tal caso, los cortes, suficientemente afilados, deben, antes de su inclusión en el bálsamo, ser sometidos á una maceración prolongada en agua hasta pérdida completa de sus partes blandas.

El esmalte puede seccionarse paralelamente á su plano, lo que es muy útil para discernir la forma de sus prismas. Para ello se hace saltar, á favor de un martillazo, una esquirla de este tejido. El pedazo obtenido, que ordinariamente es un casquete de esmalte, se desgastará y conservará como los preparados ordinarios de diente ó hueso.

Un buen medio de preparar el esmalte es la disociación. Se consigue fácilmente tratando dientes jóvenes (durante varios días) por el ácido clorhídrico ó crómico al 2 por 100, reactivos que reducen el esmalte á una costra blanda, descomponible en prismas á la menor tentativa de disociación con las agujas.

Pulpa. El examen de las partes blandas del diente (pulpa, odontoblastos, etc.), se hará en cortes de piezas decalcificadas por el ácido pícrico ó crómico (véase tejido óseo, p. 429). La disociación de los odontoblastos se ejecutará fácilmente con las agujas, tomando un poco de la zona periférica de una pulpa dentaria macerada por varios días en bicromato de potasa (3 por 100), ó ácido crómico diluído.

El estudio de la evolución dentaria puede practicarse, á falta de fetos humanos de cinco ó más meses, en las mandíbulas del perro recién nacido. Pequeños trozos de estos huesos se decalcificarán en ácido pícrico á saturación, se deshidratarán al alcohol, se incluirán en celoidina, y se reducirán á finos cortes microtómicos, que se teñirán al picrocarminato y conservarán en glicerina.

CAPÍTULO XIII

TEJIDO MUSCULAR

1.—**Def.** Es un tejido formado de células larguísimas llamadas fibras, compuestas en gran parte de *sintonina* y susceptibles de entrar en contracción bajo la influencia del sistema nervioso.

La propiedad de contraerse no es privativa de las células musculares, pues que todos los protoplasmas jóvenes son poco ó mucho contráctiles; pero en aquéllas esta actividad ha adquirido un desarrollo extraordinario y se ha supeditado á los exclusivos estímulos de otra categoría de células, los corpúsculos nerviosos; por manera que en el terreno dinámico, la fibra muscular y célula nerviosa constituyen un todo armónico y sinérgico. Esta dependencia recuerda la disposición de los elementos *neuro-musculares* de la hidra, donde segmentos continuos de un mismo protoplasma desempeñan actividades tan diversas como la contracción muscular y la producción y transmisión de las corrientes nerviosas.

2.—**División y distribución general.** Anatómicamente se divide el tejido muscular en *liso* y *estriado*, es decir, en una variedad cuyas fibras encierran una sustancia casi homogénea, y en otra en que los elementos contienen una materia estriada ó rayada transversal y longitudinalmente. Como toda modificación anatómica lleva aparejada una diferenciación funcional, dicha división se funda también en una base fisiológica: las fibras lisas se contraen lentamente y con independencia de la voluntad, en tanto que las estriadas se encogen bruscamente y necesitan el estímulo de la volición.

Es preciso guardarse de tomar tales diferencias como absolutas y comunes á todos los músculos de una misma variedad. Existen aquí, como en todas las disposiciones extremas de un tejido ó de un órgano, anillos de transición, que dificultan la clasificación de las modalidades secundarias y nos hacen barruntar la unidad de su origen y evolución. Así, el músculo cardíaco, el diafragma, y parte

del esófago, con ser músculos de fibra estriada, trabajan sin anuencia de la voluntad; y las fibras lisas de la vejiga y las que constituyen el único sistema muscular de ciertos invertebrados (moluscos, anélidos, etc.), pueden contraerse bajo la impulsión directa del sensorio. No es, pues, la textura del músculo, ni la índole de la función á que coadyuva (sea de relación ó vegetativa) lo que le da virtualidad voluntaria ó involuntaria, sino el centro nervioso de que recibe el estímulo. Las excitaciones dimanadas del cerebro y transmitidas por los nervios medulares determinan contracciones conscientes, é inconscientes las procedentes del gran simpático.

Parecidas transiciones existen en el terreno anatómico. Entre la trama estriada de la fibra de la vida de relación y la casi homogénea de la fibrocélula intestinal se hallan gradaciones de complejidad, representadas por las fibras esofágicas (con un barrunto de estriación) y las cardíacas de los vertebrados inferiores, que conservan todavía la forma é individualidad de los elementos lisos.

Estos hechos de transición no son tan numerosos que no pueda mantenerse todavía útilmente la división de Bichat. Distinguiremos, pues, en el tejido muscular la *forma estriada ó de contracción rápida* y *la lisa ó de encogimiento tardo,* caracteres que andan siempre de acuerdo. Los músculos de fibra lisa comprenden dos variedades: *la común* y *la exofágica;* los estriados otras dos: *la estriada general la cardíaca.*

VARIEDAD MUSCULAR LISA

3. – **División y caracteres físicos.** Yace este tejido en el tubo intestinal, conductos vasculares, tubos excretores de las glándulas, dermis de la piel de varias regiones, sobre los bulbos pilosos constituyendo el *arrector pili,* en el músculo acomodador de la visión, aparato génito-urinario, respiratorio, etc., etc., asociándose, en fin, á los tejidos que componen los órganos de la vida orgánica ó vegetativa.

Se encuentra, de ordinario, este tejido en masas membranosas, de color amarillento ó rosáceo, de aspecto fibroide, de consistencia semiblanda y de elasticidad notable.

4.— **Caracteres micrográficos.** Visto al microscopio un pedazo de músculo liso disociado, muestra unos corpúsculos cilíndricos ó prismáticos de tres ó más facetas, gruesos en su centro y adelgazados en sus extremos *(fibras lisas*, ó *fibro-células de Kölliker).* La longitud de tales corpúsculos es notable, oscilando por término medio entre 3 y 10 cent. de milímetro. Su espesor medido en su ecuador, de 6 á 12 μ. Aunque la forma alargada es la predominante, no dejan de encontrarse elementos cortos, como romboidales, de bordes más ó menos irregulares y membraniformes. La túnica media de las arterias es la residencia habitual de tales corpúsculos.

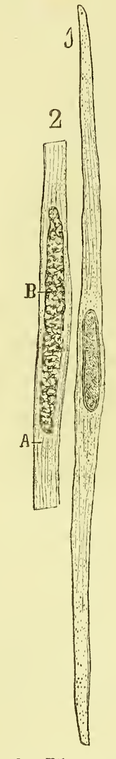


Fig. 128.—Fibras musculares lisas.—1, fibra-célula del intestino del conejo disociada por la acción del ácido nítrico al $\frac{1}{4}$; 2, Porción central de una fibra muscular de la vejiga de la rana. Examen en fresco, previa coloración con la solución de verde de metilo acetificada. — A, protoplasma.—B, retículo cromático del núcleo.

El núcleo, cuya talla mide 14 μ ó más, es ordinariamente único, aunque puede ser doble en las más voluminosas fibro-células; se caracteriza por su forma prolongada, semejante á un bastoncito con extremos redondeados. En muchas fibras el núcleo es elipsoideo y aun oval. Está situado en el eje de la célula, próximamente en la región ecuatorial, bien que sobre este punto se dan muchas variantes. (Fig. 128).

Examinado con fuertes objetivos de inmersión el núcleo de las preparaciones frescas recién tratadas por el verde metileno, exhibe una membrana incolora y un contenido cromático reticulado, cuyos hilos se disponen en gran parte en sentido transversal. A menudo hemos comprobado una disposición como espiroide del retículo cromático. No existe nucleolo verdadero, pero sí algunas gruesas nudosidades de la cromatina que parecen nucleolos. (Fig. 128, B).

El protoplasma es finamente granuloso, excepto en las inmedia-

ciones de los polos nucleares donde los granos son gruesos y refringentes. Esta granulación oculta una textura más íntima, visible solamente en las gruesas fibro-células á favor de fuertes objetivos. Consiste en un retículo finísimo, donde dominan las hebras longitudinales ó paralelas las que proceden en gran parte, y como irradiando, de los extremos del núcleo.

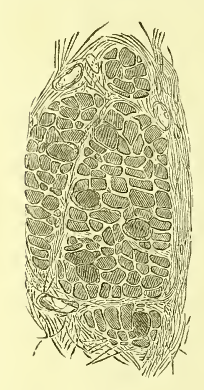


Fig. 129.—Corte transversal de un trozo de la capa de fibro-células del esófago del conejo. —Las áreas más pequeñas representan fibro-células cortadas al nivel del protoplasma, y las más gruesas, secciones ecuatoriales que comprenden el núcleo.

En torno del protoplasma existe una membrana delgadísima muy difícil de discernir, eminentemente elástica é inseparable del retículo que envuelve.

Las fibro-células se disponen paralelamente entre sí y con el plano muscular que constituyen. Con frecuencia muestran en su curso inflexiones, á veces muy apretadas y en forma de espiral. Los polos de cada elemento pueden estar ramificados, como se comprueba á menudo en los planos musculares del intestino del conejo y vejiga de la rana.

La asociación de las fibro-células es muy íntima, tocándose por sus facetas y penetrando las puntas de las unas en los huecos que las otras dejan entre sus extremos. La sustancia ó cemento que las traba es homogénea, á veces ligeramente fibrilar. Los álcalis y ácidos la atacan fácilmente, descomponiendo los músculos lisos en sus fibras constituyentes. El nitrato de plata la tiñe de negro, del propio modo que á la sustancia que traba las células epiteliales.

Las masas formadas por la asociación de fibro-células tienen unas veces la forma de tubos membranosos, otras la de fascículos de vario espesor, continuados entre sí como los del tejido conectivo. No existe ninguna túnica especial que individualice los haces musculares: estos están separados solamente por cierta cantidad de tejido conjuntivo laxo, rico en fibras elásticas y en capilares sanguíneos. (Véase la fig. 129).

Fibras esofágicas. Entremezcladas con las musculares estriadas, se ven en el exófago del hombre unas fibro-células larguísimas y de

considerable espesor (10 á 20 centés. de largo por 12 ó 14 μ de ancho). Su protoplasma, limpiamente fibrilar, está como interrumpido de trecho en trecho por varias intersecciones (4 á 8) formadas de una materia brillante de apariencia córnea, y tendidas, ya transversal, ya oblicuamente á la dirección de la fibra. Los hilos del retículo, en su mayor parte longitudinales y paralelos, parecen unirse á las dos caras de estos septos ó discos brillantes, cuya significación morfológica, como veremos más adelante, es la de una membrana de Krause de la fibra muscular estriada. El núcleo yace entre las dos estrías más próximas al ecuador.

VARIEDAD MUSCULAR ESTRIADA

1.—**Distribución y caracteres físicos**. Forma este tejido los músculos de la vida de relación y se le halla en todos los órganos donde convienen movimientos rápidos y enérgicos. Poseen también fibras estriadas algunos músculos de la vida orgánica, como el diafragma, corazón y exófago de los vertebrados superiores, los corazones linfáticos de los batracios, el tubo intestinal de muchos invertebrados, etc., etc.

El tejido muscular estriado presenta un color rojo más ó menos intenso en los mamíferos, rosa pálido en los batracios, reptiles y peces, blanco amarillento en los músculos de las alas de los insectos y gris rosáceo en la de las patas, etc. Su aspecto es fibroso, reduciéndose fácilmente á fascículos longitudinales; su consistencia semiblanda; su elasticidad notable, y su peso específico llega á 1'041.

2.—**Caracteres micrográficos.** Cuando se disocia mediante las agujas un pedazo de tejido muscular estriado, se advierten al microscopio, como últimos elementos de constitución, unas células multinucleares, larguísimas, de estructura compleja, que se han llamado *fibras musculares.* Su forma es prismática, con variedad de facetas que tocan las de los elementos vecinos; menos frecuentemente son cilindroides. El espesor de las fibras estriadas varía mucho en los diversos animales. Las de las alas de los insectos pueden llegar á 0'3 de milímetro; las de la rana oscilan entre 40 μ y 50. En los mamíferos el diámetro es, término medio, 20 á 40 μ. La talla de los cor-

púsculos musculares es enorme, aunque no tanto como se había supuesto por ciertos autores, que la igualaban á la longitud misma del músculo. Según Krause, la estatura de estas fibras no pasa de 4 á 5 centímetros. Félix les concede en el hombre una extensión de 5'3 á 9'8 centímetros, pudiendo alcanzar en ciertos casos 12 y más. Conservan parecido espesor en toda su longitud, disminuyendo sólo al nivel de sus extremos que son, de ordinario, redondeados. En ciertos músculos (los linguales, los *arrector pili* del hocico de los roedores, etc.), los cabos aparecen adelgazados y divididos en varios apéndices puntiagudos. El color de las fibras vistas al microscopio es blanco transparente en los batracios, reptiles y peces, etcétera, blanco turbio en las alas de los insectos, y blanco amarillento en los mamíferos.

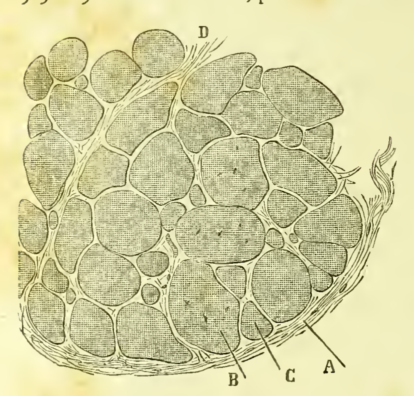


Fig. 130.— Corte transversal de un trozo del gastronemio de la rana.—D, tabique conjuntivo.—C, fibra muscular pequeña de través.—B, fibra muscular más grande.—En algunas se muestran unos puntos que representan los núcleos interiores.

Examinando atentamente la estructura de la fibra muscular se echa de ver que contiene cuatro cosas: *el sarcolema, los núcleos, la materia estriada ó contráctil,* y *las inclusiones.*

a.—*Sarcolema.* Es la envoltura del elemento contráctil. Se la ve al microscopio como una lámina hialina delgadísima, aplicada íntimamente al material estriado, cuyos movimientos sigue sin formar arrugas, gracias á su gran elasticidad. Tratando por el agua las fibras musculares frescas, el sarcolema, dilatado en bolsas por el líquido, se separa del material estriado, haciéndose claramente perceptible. Los cortes transversales de fibras maceradas en alcohol muestran igualmente con limpieza esta membrana.

El sarcolema envuelve la totalidad de la fibra, inclusos los extremos. Por su superficie externa está en conexión con los capilares sanguíneos y el tejido conectivo interfibrilar, y por su interna se adhiere íntimamente al material estriado.

b.—*Núcleos*. Son unos corpúsculos elipsoides, más ó menos alargados, orientados paralelamente á las fibras y situados unas veces bajo el sarcolema (mamíferos), otras en el espesor mismo de la sustancia contráctil (batracios, reptiles, peces, insectos, etc.). Su número es considerable en cada fibra, y su distribución irregular, aunque parecen alternar lateralmente. Miden una longitud de 8 á 10 μ por 3 ó 4 de diámetro. Cuando son infrasarcolemáticos están aplastados de fuera á dentro, poseyendo una cara casi plana tangente al sarcolema, y otra convexa en conexión con la sustancia muscular; pero si son intramusculares adquieren figura prismática, con facetas acanaladas, y crestas de impresión análogas á las ofrecidas por los corpúsculos tendinosos (fig. 131, c.)

Examinados en fresco, se presentan los núcleos como simples vesículas hialinas, ovoideas, sin barrunto de textura. La coagulación por el alcohol y bicromatos revela en ellos una cubierta homogénea y tenue y un contenido granuloso. Bajo la acción de los ácidos débiles asociados á las anilinas, aparece un armazón cromático dispuesto en red apretada, cuyas mallas son en gran parte transversales. Conduciendo el examen á las zonas vecinas, se advierte, como prolongándose de los polos del núcleo, una pequeña masa granulosa, extendida durante cierto trecho por entre las fibrillas musculares. Esta sustancia granular, más aparente en las fibras jóvenes que en las adultas, representa un pedazo del protoplasma primitivo, no aprovechado en la construcción de la trama estriada. Los núcleos con dichas masas granulosas constituirían según Schültze y Welcker células separadas, interpretación inaceptable, pues aquéllas se continúan evidentemente con la sustancia estriada por numerosas fibrillas. La fibra muscular, como más adelante veremos, no está formada de muchas células, sino de una sola, de protoplasma diferenciado en estrías, que encierra numerosos núcleos.

c.—*Materia estriada*. Cuando se observa al microscopio una fibra muscular de vertebrado, se perciben en el material que la constituye dos clases de estrías: unas longitudinales, poco perceptibles; otras transversales, muy evidentes. Las primeras proceden de finas fibras perfectamente paralelas, de aspecto grisáceo, que aparecen en unos puntos y desaparecen en otros, surcando con cierta desigualdad la materia contráctil. Las más gruesas de estas hebras

se continúan con los extremos de los núcleos, y contienen á menudo granulaciones grasientas (fig. 131.)

Las estrías transversales son más anchas, correctas y regulares. Su espesor varía entre 1 y 2 μ, conservándose uniformemente en todo el grueso de la fibra. Cada estría transversal consta de dos bandas: una oscura, más ancha, birefringente y colorable por la hematoxilina (*banda anisótropa, sustancia sarcódica, contráctil, disco espeso,* etc.), y otra clara, más delgada, monorefringente, que carece de afinidad por las materias colorantes (*sustancia isótropa, banda delgada, materia unitiva longitudinal,* etc.). En el centro de la banda oscura se descubre en ciertos casos una línea más pálida y menos tingible por los reactivos, llamada *raya de Hensen.* Y en el medio de la banda clara se discierne con un buen objetivo una estría oscura, ligeramente granulosa, algo birefringente, que se ha denominado *línea de Amici* ó *de Krause.* Esta raya no falta nunca en la fibra muscular, cualquiera que sea el animal objeto del examen, y luego veremos que representa una de las partes más interesantes de la sustancia estriada, en tanto que la de Hensen es accidental y no se presenta nunca en las fibras vivas de los vertebrados.

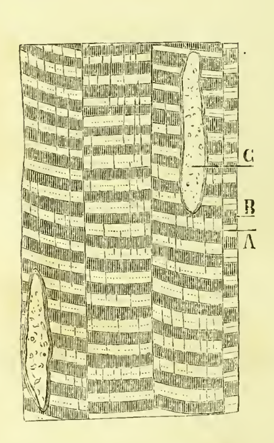


Fig. 131.—Un trozo de fibra muscular estriada de la lengua de la rana. — A, banda clara en cuyo centro se percibe una fina raya (línea de Krause).—B, banda oscura. —C, núcleo. —Examen en vivo con el ob. $\frac{1}{18}$ oc. 4 Zeiss.

3.—**Constitución íntima de la materia estriada.** La apariencia estriada oculta una textura más íntima, dificilísima de discernir en estado fresco y todavía más en las fibras muertas, donde han ocurrido cambios numerosos, unos producidos por la relajación ó retracción de las fibras, otros debidos á la coagulación de la miosina, y algunos á la disgregación ó destrucción de partes preexistentes. Esta dificultad sube de punto, considerando los efectos discordantes causados por los reactivos, pues no existe ninguno que pueda estimarse como fijador perfecto de la trama muscular viviente. De aquí las innumerables

opiniones que existen, casi tantas como reactivos ó métodos utilizables, pues cada autor, encariñándose con los efectos producidos por un reactivo particular, ha tomado por textura real modificaciones más ó menos artificiales, y rechazado ó interpretado de un modo arbitrario las revelaciones de los demás agentes analíticos.

4.—**Fibras musculares de las patas de los insectos.** Antes de referir los pareceres más autorizados que hoy reinan sobre este punto, expondremos el resultado de nuestras observaciones en los músculos de las patas de los insectos, cuyas fibras, por ser más gruesas que las de los vertebrados, han sido el objeto preferentemente estudiado por los micrógrafos modernos.

a.—*Examen de las fibras vivas.* Cuando se examina, previa disociación en el plasma del animal, el contenido de una fibra muscular de coleóptero (*hidrófilo,* por ejemplo), aparecen claramente dos bandas: una ancha y clara que llamaremos *estría* ó *banda espesa,* y otra sumamente delgada y refringente que designaremos *estría* ó *banda delgada* (fig. 132.)

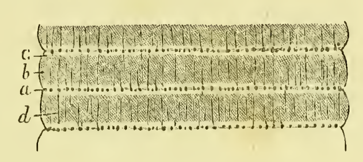


Fig. 132.—Trozo de fibra viva de las patas del hidrófilo; *a,* estría delgada y granulosa; *b,* estría espesa; *d,* fibrilla preexistente; *c,* rayas brillantes que bordean los extremos de la estría espesa.

La banda espesa (1) es blanca, homogénea, birefringente, coagulable espontáneamente y bajo la acción de muchos reactivos (alcohol, ácido crómico, etc.) Un examen atentísimo con un fuerte objetivo de inmersión homogénea ($^1/_{30}$ *apocromático* Zeiss, por ejemplo), nos demuestra que dicha materia está cruzada por finísimas hebras paralelas entre sí y con el haz muscular. Dichas fibrillas, que llamaremos *fibras preexistentes,* para distinguirlas de otras que resultan de la coagulación de la miosina y son productos artificiales, son muy visibles cerca de la banda delgada, la cual cruzan, continuándose á lo largo del haz muscular sin ramificarse ni anas-

(1) Esta banda comprende la oscura y la mitad próxima de las claras que los autores describen en las fibras coaguladas. La estría delgada representa exclusivamente la línea de Krause. La estría clara, difícil de discernir en muchos casos, no corresponde á una sustancia especial del haz muscular, sino á la miosina del disco espeso más intensamente iluminada. Véase más adelante.

tomosarse. En su cruce por la raya delgada *(banda transversal, línea de Krause* de ciertos autores), las hebras muestran, unas veces un grano refringente y algo alargado, otras dos granitos separados por un punto más claro, que no es otra cosa que la estría delgada vagamente perceptible. No todos los hilos ofrecen igual espesor; la mayor parte no pasan de 0,3 de μ, pero de trecho en trecho se ven otros más gruesos (0,5 ó más μ) y refringentes provistos, á su paso por la estría delgada, de un nódulo voluminoso y brillante. Al nivel de estos filamentos, se advierte con frecuencia cambiar la posición de las rayas delgadas (membranas de Krause), situándose en nivel más alto ó más bajo del que tenían. Este cambio de orden de las estrías puede ocurrir muchas veces en un mismo haz, prestando al conjunto apariencia fasciculada (fig. 131).

Las *estrías delgadas* son más oscuras y refringentes; su aspecto es como granuloso (por los granitos de las fibrillas que la cruzan), y el polarizador demuestra en ellas un principio de monorefringencia *(isotropia):* continúanse transversalmente por todo el espesor del fascículo y se insertan fuertemente en la superficie interna del sarcolema. Esta inserción aparece muy clara en los haces contraídos, porque el sarcolema se despega por todas partes del material estríado menos en sus adherencias con la banda delgada, á cuyo nivel está plegado circularmente. Por encima y debajo de la banda estrecha se ven con frecuencia dos rayas brillantes, claras *(banda clara* de muchos autores), mal limitadas del disco espeso; estas bandas no parecen corresponder á discos nuevos y efectivos, sino que son probablemente efecto de la reflexión total de la luz en las caras del disco delgado (Hepenner.)

Como se ve, el examen en vivo nos demuestra: la existencia de una *banda delgada* transversal inserta en el sarcolema; la de una *materia semilíquida* que llena el espacio que media entre dos bandas delgadas, y la de unas *fibrillas* sumamente finas y difíciles de ver que cruzan la banda espesa y la delgada, uniéndose con ésta de un modo íntimo. Falta ahora averiguar si la banda delgada es un disco general que atraviesa toda la fibra, una red ó una simple anastomosis transversal de los hilos, y falta además cerciorarse de que éstos son efectivamente filamentos y no tabiques longitudinales como muchos histólogos han supuesto.

b.—*Examen de las fibras tratadas por los ácidos asociados al cloruro de oro.* Impregnando las fibras vivas de los insectos, bien por el método de aurificación de Loewit, bien por los de Ciaccio, Melland, Retzius, etc., los haces musculares se hinchan considerablemente, adquieren color rojo violáceo, gran diafanidad y cierta tendencia á descomponerse en discos anchos y delgados que interesan todo el espesor del haz muscular. Estos discos, conocidos con el nombre de *discos de Bowman,* corresponden exactamente á la banda delgada y su examen es de la mayor importancia para el desentrañamiento de la textura del haz.

Fig. 133.—Un trozo de un haz muscular del conejo de Indias, tratado por el cloruro de oro; *a*, filamento preexistente; *b*, membrana de Krause; *c*, nudo de la red.

Cuando un disco de Bowman se examina de perfil, aparece á la manera de una faja hialina continua y pálida, sembrada de trecho en trecho de granos refringentes teñidos por el oro en violeta intenso. Estos granos se continúan, como los de las preparaciones vivas, con los filamentos preexistentes que el ácido, así como el cloruro de oro, han respetado y que, á corta distancia de la banda delgada, es decir, en el espesor de la espesa, están rotos y como retraídos (fig. 133 y 136).

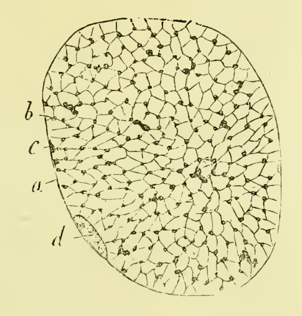


Fig. 134.—Disco de Bowman visto de cara.—Impregnación áurica de los músculos de las patas del hidrófilo: *a*, sarcolema; *b*, hilo de la red; *d*, núcleo unido á los filamentos de la red.—Los nudos más gruesos corresponden á las fibras preexistentes más voluminosas.

Vistos de plano, muestran los discos de Bowman una elegante red teñida en violeta por el oro, particularmente al nivel de los nudos, donde se halla el grano que las fibras preexistentes ofrecen á su paso por la banda delgada. Las áreas limitadas por la red son poligonales é incoloras, y se conocen con el nombre de *campos de Cohnheim.* Algunos autores (Melland, Geuchten) las suponen vacías ó llenas á lo más de miosina disuelta en el liquido reactivo; pero una observación cuidadosa de estas áreas vistas de perfil, permite apreciar que son sólidas y están construídas de una materia hialina, extremadamente pálida, que los ácidos y álcalis hinchan

sin disolver. Dicha sustancia forma un tabique transversal, ó si se quiere un diafragma de materia blanda, separatorio de la miosina de los discos espesos (fig. 134).

Los hilos de la red del disco de Bowman parecen representar por su aspecto, así como por sus propiedades químicas, el retículo de las células. Como éste, arrancan de los núcleos (de aquella pequeña cantidad de protoplasma no diferenciado que los rodea), y se insertan en la membrana (sarcolema). En ciertos insectos *(ditiscus marginalis, apis, vespa*, etc.), los núcleos están situados en el centro de la materia estriada y de ellos irradian brazos de protoplasma, al principio gruesos, luego más delgados, de cuyas ramificaciones y anastomosis se constituye la elegante malla de la banda estrecha. Como estos núcleos son axiales y alargados considerablemente en el sentido del haz muscular, cada uno de ellos da origen á varias membranas transversales reticuladas.

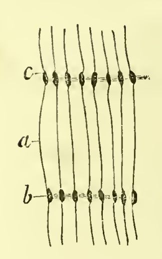


Fig. 135.—Trozo de haz relajado del hidrófilo, tratado por el ácido fórmico al 4.°; *a*, fibrilla preexistente; *b*, raya delgada ó de Krause; *c*, granos alargados situados al nivel de los nudos de la red transversal.

En los parajes en que no ha ocurrido la descomposición discoidea, las fibras preexistentes se hallan íntegras y resaltan poderosamente en el seno de la banda espesa, cuya miosina ha sido en gran parte disuelta por los ácidos. En los puntos en que los haces están algo retraídos, las fibrillas muestran, en la parte media de su trayecto por la banda ancha, un nódulo violáceo más ó menos intenso (fig. 136), de forma bicónica, que puede ofrecer muchas variantes. En las partes relajadas, las hebrillas, ó no poseen nódulo violáceo, ó lo tienen pequeñísimo. Estos hilos son los más delgados y los que más fácilmente se quiebran. La ruptura de los hilos

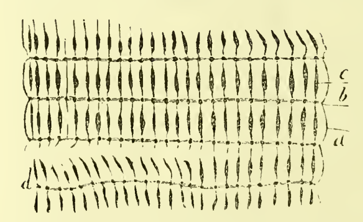


Fig. 136—Pequeña fibra de las patas de la *blata oriental* impregnada por el cloruro de oro (Método de Loewit). *a*, sarcolema; *b*, estria delgada con sus granos; *c*, engrosamiento de los hilos longitudinales en el centro de la banda espesa; *d*, disco de Bowman en vias de separación; nótase que la ruptura de los hilos ha tenido lugar entre la línea de Krause y el engrosamiento bicónico.

recae en el espacio limitado por dos bandas delgadas ó líneas de Krause; pero si en la región de la banda espesa ha quedado algún resto de los acúmulos bicónicos de materia *auróflla*, la ruptura recae bien encima, bien por debajo de éstos; de modo que el disco de Bowman puede constar, unas veces de la banda delgada y parte de la espesa, y otras de aquélla con casi toda la espesa situada por encima y por debajo.

A tres causas es preciso atribuir la descomposición del haz muscular en discos de Bowman: la disolución ó adelgazamiento de los hilos que les presta gran fragilidad; la solución de la miosina que forma la ganga intersticial del disco espeso, y la conservación del disco delgado, invulnerable á los ácidos, así como de la red protoplasmática que contiene.

La presencia en torno de las fibras de los acúmulos de materia colorable por el oro, y la variable situación y volumen de éstos en las fibras contraídas y relajadas, dan á entender que el filamento preexistente se compone de dos materias: una periférica, colorable, retráctil hacia la parte media de la banda espesa y resistente á los ácidos; y otra axial incolorable al oro y mucho menos resistente á los ácidos, así como á los álcalis enérgicos.

c.—*Alteraciones cadavéricas de la fibra estriada y acción de los coagulantes.* Cuando el haz muscular deja de ser irritable cambia rápidamente de aspecto; las fibrillas preexistentes se alteran, fragmentándose en granulaciones refringentes redondeadas separadas por una materia reblandecida y apenas aparente. El proceso de la fragmentación puede seguirse fácilmente en las hebras preexistentes más gruesas que yacen cerca de la superficie de sección ó de ruptura de los fascículos frescos. Comienzan por hacerse monoliformes; luego sus granos se ensanchán y redondean, quebrándose la materia hialina que los junta y se forman esferas gruesas brillantes, que pueden hacerse libres con las maniobras de disociación. Al propio tiempo, la materia de la banda ancha se coagula, adquiere mayor refringencia y ese aspecto gris, por el cual los histólogos la han llamado *banda oscura.* En algunos puntos el coágulo parece continuo, pero en otros descompónese en fibras (*bastón miósico,* de Geuchten, *columnas* de Köllicker, *fibrillas* de muchos autores), á consecuencia de la aparición en el paraje que ocupaban las fibrillas

preexistentes de vacuolas lineares, llenas de un líquido claro, é interrumpidas al nivel de las bandas delgadas. Las nuevas fibras así formadas, que nosotros llamaremos *fibras-moldes, fibras miósicas* ó *coagulum muscular,* representan el vaciado del espacio que existe entre las fibrillas preexistentes, y se las ve prolongadas á través del campo de Cohnheim que llenan y de la membrana de la banda delgada que engloban, con cilindros ó moldes situados en su continuidad, por arriba y abajo.

La disociación de tales cilindros es fácil, sobre todo si la fibra ha sido tratada por el alcohol, bicromatos, ácido pícrico, crómico, bicloruro de mercurio, solución yodada, en fin, por todos los agentes capaces de acelerar la coagulación de la miosina y de endurecerla y retraerla.

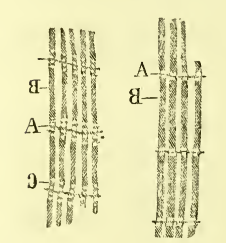


Fig. 137.—Fibras-moldes coaguladas por el alcohol y un poco estiradas.—A, estría de Krause.—B, raya espesa ú oscura; C, disco accesorio ó de Engelman. (Las fibras de la derecha proceden de las patas y las de la izquierda del intestino del hidrófilo).

Examinadas las fibras-moldes en estado de perfecta relajación, exhiben dos bandas: una estrecha, muy refringente, *isótropa*, resistente á los ácidos, regularmente colorable por la hematoxilina, safranina, fuchina, la cual corresponde exactamente á la banda delgada de la fibra viva; y otra banda mucho más ancha, menos refringente, *anisótropa,* muy alterable por los ácidos que concluyen por destruirla, débilmente tingible por la hematoxilina, etc., que corresponde á la banda espesa de la fibra viviente.

Si se estiran estas fibras-moldes por el procedimiento de la disociación por semidesecación, aparecen nuevas bandas; encima y debajo de la estría delgada (membrana de Krause) se ve una raya clara é incolorable por la hematoxilina (banda clara de los autores), y en el centro de la banda espesa (que por contraste ahora con las claras de nueva formación resulta más oscura), se advierte otra algo más clara y menos tingible por los reactivos colorantes, denominada *raya de Hensen.* En fin, ciertas fibras estiradas de las patas de los insectos y especialmente las fibras del intestino del hidrófilo, blata oriental, etc., ofrecen además, en aquellas bandas claras rayanas de la estría delgada, una línea oscura *(línea de Engelmann)* (fig. 137, c).

Ninguna de estas bandas (excepción hecha de la espesa y delgada primitivas) preexiste en el estado vivo ni aun en las fibras coaguladas y relajadas; por consiguiente, es preciso estimarlas como productos artificiales y no hacerles jugar papel ninguno en el mecanismo de la contracción muscular.

Las fibras-moldes están unidas dentro del haz por una materia granulosa qne llena el intersticio que media entre los discos delgados. Los mismos moldes aislados suelen presentar en el contorno de la banda delgada un apéndice ó prolongación que opone cierta resistencia á la separación. Esta materia granulosa de unión es simplemente el vestigio de la red protoplasmática que contiene la membrana de Krause ó el gran disco de Bowman. En las preparaciones coaguladas esta red se ha hecho friable, rompiéndose fácilmente (fig. 137, A.)

d.—*Acción de los ácidos sobre las fibras coaguladas.* Los cambios sufridos son semejantes á los que presentan los haces tratados en fresco por los ácidos: la estría espesa se hincha, pierde refringencia y concluye por disolverse, mientras que la estrecha resiste, así como las series granulosas, vestigio de las fibrillas preexistentes. Los núcleos musculares aparecen con gran claridad, no hallándoselos nunca en la continuidad de las fibras-moldes, sino entre las mismas, en el seno de la materia granulosa intercolumnar. Los álcalis obran de manera parecida, sólo que destruyen más rápidamente la banda espesa.

e.—*Cortes transversales de los haces coagulados.* Los haces musculares, vistos en sección óptica ofrecen, tanto en el estado fresco como después de la acción de los ácidos, una reticulación en que las mallas son claras y los hilos oscuros. En los preparados coagulados y seccionados, previo teñido con la hematoxilina y englobamiento en parafina, el aspecto es contrario; los hilos aparecen claros y como granulosos y las áreas oscuras y refringentes. Un examen atento permite demostrar que estas áreas brillantes son simplemente la sección transversal de las fibras-moldes. En ciertos puntos se echa de ver que el campo de Cohnheim está fragmentado en dos ó más áreas secundarias, disposición que guarda relación con el hecho bien cónocido, de que las fibras-moldes se descomponen por disociación en numerosas fibrillas todas las cuales contienen las

dos bandas mencionadas, ancha y delgada (1). La indeterminación en el número y tamaño de estas hebras y la imposibilidad de descubrir en ciertos moldes enteros vestigios de junturas ó discontinuidades, hacen sospechar que la columna de Kölliker ó *coagulum* no se compone de hebrillas preexistentes (de ellas no hay vestigio en estado fresco), sino simplemente de una materia que ha adquirido *post-mortem* la propiedad de hendirse y fragmentarse en filamentos. Esta propiedad no es común á toda clase de fibras-moldes, pues ya veremos que las de los músculos de las alas son homogéneas é insegmentables.

5.—**Músculos de los vertebrados**. Presentan los mismos aspectos con leves diferencias. Las fibras preexistentes son mucho más delgadas y alterables, y por consiguiente dificilísimas de ver. La banda delgada ofrece granos menos gruesos y nunca dobles. La banda espesa se coagula rápidamente y las rayas claras que se ven en sus límites se presentan con gran claridad (véase la fig. 131). Al nivel de los filamentos preexistentes más gruesos continuados á menudo con los extremos nucleares, se advierten en ciertos casos (rana, conejo) series de granos grasientos que el oro, así como el ácido ósmico, tiñen intensamente. Los ácidos producen también elegantes discos de Bowman, cuyas redes irradian del sarcolema y de los núcleos (rana). En fin, los reactivos coagulantes obran de idéntica manera que en los insectos, arruinando la trama preexistente y engendrando fibras miósicas sumamente delgadas.

En resumen: las fibras vivas constan: 1.°, de unas redes protoplasmásticas transversales unidas á los núcleos y al sarcolema; 2.°, de fibrillas de grosor variable, dirección longitudinal y paralela que enlazan todos los nudos de las redes superpuestas colocados en igual línea; 3.°, de una materia amorfa, coagulable, birefringente (miosina unida quizás á otras sustancias albuminoides), interpuesta á los hilos longitudinales, constituyente de la banda espesa, y separada en grandes compartimientos transversales por una materia ó capa más sólida y resistente á los reactivos, la cual llena las

(1) Esta circunstancia aboga en pro de la opinión que hemos sostenido en el texto, de que en las áreas ó campos de Cohnheim hay una membrana transversal, porque si la estría delgada se debe á la red, ¿cómo subsiste hasta en el espesor de la fibra-molde?

mallas de la red de la llamada línea de Krause, y da lugar, vista de perfil en el haz muscular, á la banda ó estría delgada.

Las fibras producidas por los agentes coagulantes son puramente artificiales y representan el vaciado de los espacios interfibrilares y campos de Cohnheim. La descomposición del haz en fibras-moldes procede del endurecimiento de la miosina, de la destrucción de las fibrillas preexistentes y de la fragilidad de las redes protoplasmáticas transversales.

6.—**Fibras de los músculos de las alas de los insectos.** El considerable diámetro de las fibrillas de estos músculos y la extrema facilidad con que se disocian aún en estado fresco, han sido los motivos que han movido á los autores á estudiarlas de preferencia, tanto más cuanto que se han considerado, y aun hoy se consideran por muchos micrógrafos, como el modelo naturalmente ampliado de las fibrillas musculares de las patas y de las del tejido muscular de los vertebrados. Hoy se ha reaccionado contra este parecer, habiendo autores que estiman las fibras de las alas como una forma completamente aparte del tejido muscular estriado (Geuchten), y hasta los hay que dudan de su naturaleza muscular (Kuhne). Como en breve veremos, estas opiniones son exageradas. Los elementos constituyentes de las fibras musculares de las alas representan los de las patas, pero bajo una forma simplificada y abreviada.

a.—*Examen en estado vivo.* Un haz muscular vivo de un coleóptero (hidrófilo, por ejemplo, etc.), examinado en plasma, aparece formado por estrías longitudinales gruesas y por rayas transversales delgadísimas apenas aparentes.

Las estrías longitudinales se dividen en *claras* y *oscuras* ó gruesas y delgadas.

Las *estrías oscuras* tienen un espesor de 1 á 2 μ, y son paralelas, muy refringentes, isótropas y homogéneas. Extiéndense por toda la longitud del haz sin ramificaciones ni discontinuidades, y parecen formadas por una materia delicadamente granulosa, como protoplasmática. Caracterízanse estas fibras por su gran vulnerabilidad. De homogéneas que son cuando frescas, se hacen rápidamente estriadas segmentándose en bastones refringentes unidos por una materia pálida y apenas perceptible.

En los bordes de la fibra y en todos los parajes en que existen desgarros ó se producen compresiones, la segmentación granular se exagera, adquiriendo los bastones, forma esferoidal y gran refringencia.

Examinadas estas fibras (que llamamos *prismas musculares* ó *fibras preexistentes,* pues representan exactamente las fibrillas preexistentes de los músculos de las patas) en los cortes transversales del haz viviente, se ve que son prismas de facetas acanaladas, cuyas aristas prolongadas en forma de aletas se anastomosan con las de los prismas inmediatos. El conjunto constituye una red refringente que limita mallas redondeadas ó ligeramente poligonales que representan los campos de Cohnheim de las fibras de las patas.

Las *estrías claras* alternan con las anteriores, son más anchas (3 á 4 μ), y parecen formadas por una materia semilíquida, birefringente, coagulable y análoga á la miosina; ocupa esta materia los conductos cilíndricos que resultan de las anastomosis más ó menos completas de las aletas de los elementos prismáticos. Al principio del examen, es difícil discernir ningún detalle en esta banda longitudinal clara, pero al poco rato, sobre todo en los parajes superficiales de los haces, se descubren en ella dos estrías transversales análogas á las de las fibras de las patas: una delgada y finísima (banda delgada), *isótropa*, resistente á los ácidos y álcalis, extendida en disco transversal é íntimamente unida á los prismas preexistentes, y otra ancha, pálida, *anisótropa* (estría espesa), formada probablemente de miosina y susceptible de coagularse espontáneamente.

Como los elementos de las fibras de las patas, los de las alas se alteran rápidamente: los prismas se fragmentan y desintegran, quedando en su lugar una materia protoplasmática reblandecida, y los discos espesos se endurecen y retraen, arrastrando consigo la banda delgada y separándose en largas fibras *(coagulum muscular, fibras-moldes)* á la menor tentativa de disociación. El alcohol al tercio, los bicromatos, el yodo, en fin, todos los coagulantes y aun la simple maceración en agua, aceleran esta descomposición.

Las fibras-moldes aisladas y relajadas no presentan más que las dos estrías mencionadas; la espesa y pálida, y la delgada y refringente. Esta última es un poco más tingible por la hematoxilina

que la precedente y sobresale siempre del nivel general de la fibra. Pero desde el momento en que las fibras se estiran, nuevas estrías aparecen, presentándose con tan variados aspectos que hacen imposible una completa descripción. Siguiendo los cambios sobrevenidos en una fibra sucesivamente estirada y coloreada por la hematoxilina, podremos distinguir en ella cuatro zonas: 1.º, *normal,* donde las estrías se disponen como en las fibras relajadas; 2.º, *neutra,* donde, á causa de un principio de distensión, todas las estrías han desaparecido bajo una tinta violeta pálida uniforme; 3.º, *negativa,* en que la tinta violácea uniforme de la fibra se ve interrumpida de trecho en trecho por bandas delgadas blancas, disposición contraria á la normal, pues en las fibras relajadas es violeta oscuro lo que en éstas es claro; 4.º, *zona de la multiplicidad de las bandas,* en la cual la banda hialina é incolora anterior está dividida en dos por una raya oscura *(línea de Krause, de Amici* ó *de Dobie),* y la violácea ú espesa presenta en el centro una raya menos teñida ó completamente incolora *(raya de Hensen).* Por último, los parajes de las fibras en que la distensión ha llegado al *máximum,* se caracterizan por su adelgazamiento extremo y, sobre todo, porque el disco oscuro (dividido por la raya de Hensen) se rompe, originando otra nueva banda oscura yacente á corta distancia de la línea de Krause (disco de *Engelman*) (fig. 138).

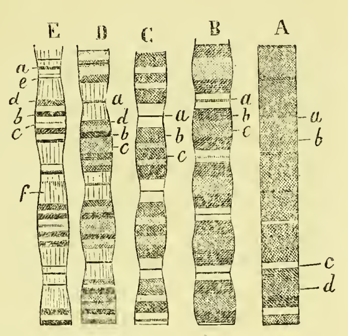


Fig. 138. — Fibras-moldes del ala del hidrófilo estiradas y teñidas por la hematoxilina.—A, fibra relajada en su parte superior y levemente estirada en su inferior: *a,* estría delgada; *b,* estria gruesa; *c,* estría clara; *d,* estría oscura.—B, fibra más estirada, donde son visibles en *a,* la raya de Krause, y en *c,* la de Hensen.—C, fibra más estirada donde en medio de la raya de Hensen hay una estría oscura.—D, fibra más distendida aún que presenta en *d,* la raya de Engelman ó disco accesorio y en *a,* la de Krause.—E, donde existen dos nuevas estrías muy delgadas, una en *e* y otra en *c;* nótase además cierta estriación longitudinal en las partes claras.

Se puede deducir de lo expuesto, que las fibras-moldes son la representación exacta del *coagulum* ó columnas de Kölliker de los músculos de las patas, pues que dan por estiramiento el mismo nú-

mero de estrías; añadamos aún, que los reactivos las tiñen y modifican del propio modo. La única diferencia existente consiste en que el *coagulum* de las alas es mucho más grueso y no es susceptible de quebrarse en más pequeñas fibrillas.

¿A qué corresponden en las fibras vivas las diversas bandas del *coagulum* estirado? No es fácil determinarlo. La única estría que parece preexistente de todas las bandas producidas por el estiramiento es la de Krause, que, á nuestro entender, representa la banda estrecha de la fibra viva, pues como ésta es monorefringente y resiste á los ácidos y álcalis. En cuanto al mecanismo de formación de las estrías artificiales, podría en parte explicarse, suponiendo que la capacidad de estiramiento, ó si se quiere la elasticidad de las zonas superficiales y profundas del *coagulum* es desigual: la zona superficial se quebraría al menor estiramiento, concentrándose en ciertos parajes, donde determinaría las diversas bandas oscuras; la zona axial ó profunda resistiría á la distensión y daría lugar, en los puntos en que la retracción de las capas superficiales la pusiera al descubierto, á las bandas claras é incoloras. Lo que parece apoyar esta conjetura es que los cilindros musculares se presentan siempre engruesados al nivel de las partes oscuras, y delgados en las claras.

Las preparaciones frescas de fibras de las alas tratadas por el método de la impregnación áurica ó solamente maceradas en los ácidos, producen preparados muy semejantes á los de las patas. Los prismas preexistentes se tiñen de violeta, en tanto que el *coagulum* queda incoloro, mostrando solamente sus discos delgados. Los cortes transversales exhiben una hermosa red violeta constituída en sus nudos por el eje de los prismas y en sus fibras por las aletas anastomóticas de éstos. Los núcleos de la fibra muscular yacen en el espesor mismo de los prismas y son mucho más pequeños y numerosos que los de las fibras comunes. Las expansiones de los prismas periféricos se fijan en el sarcolema, así como las bandas delgadas más superficiales. Con frecuencia los prismas se reunen en hileras de dirección convergente al centro del haz muscular. En las más gruesas de estas hileras se ve un *tractus* protoplasmático en continuación con los núcleos y portador de finísimas ramificaciones de tráqueas.

En resumen: Las fibras de las alas de los insectos tienen sarco-

lema y núcleos interiores en continuación con el retículo preexistente como en las fibras de las patas. Las fibrillas vivas de las patas están en las alas representadas por los prismas (igualdad de vulnerabilidad, de coloratilidad por el oro, de situación, de continuidad nuclear, etc.). Las fibras-moldes de las patas son iguales á las de las alas, y ocupan, como las de éstas, el centro de un campo de Cohnheim. La banda delgada de la fibra muscular de las alas es igual á la línea de Krause, ó disco de Bowman, de las de las patas, igualdad que debe hacerse extensiva á los discos espesos de ambas especies musculares. La única diferencia esencial que separa los músculos de las patas y alas es, que en éstas el protoplasma no se limita á formar una red estrecha y transversal, rodeando solamente las bandas delgadas, sino que se prolonga hacia arriba y hacia abajo de una á otra banda delgada, juntando lateralmente las fibras preexistentes.

7.— **Opiniones sobre la textura de la fibra estriada.**— Innumerables son los dictámenes de los sabios acerca de este dificilísimo punto: en la imposibilidad material de exponerlos todos, vamos á indicar brevemente los más autorizados:

1.º *El haz muscular se compone de fibrillas lisas é independientes, unidas por un cemento longitudinal.* Schwann (*Mik. Untersuchun. ü. die Uebereinst. in der Struc. und d. Waschs.*, etc., 1839, y *Müller's Handbuch der Physiol.* Bd. II., 1833 á 37), Gerber (*Allgemeine Anatomie,* 1840), Müller (*Handbuch der Phis.,* 1835 á 37), Meyer (*Seelenorgan*, 1838), etc., aceptaron esta manera de ver, suponiendo, para explicarse el aspecto estriado, que las fibrillas eran varicosas y que sus partes gruesas y delgadas correspondían al mismo nivel. El descubrimiento del sarcolema y de los núcleos, debido respectivamente á Valentín y Schwann, hizo entrar el haz muscular en la categoría de célula y se consideraron las fibrillas como un protoplasma diferenciado.

2.º *El haz muscular consta de fibrillas construídas de zonas ó artículos alternados de naturaleza distinta.* Brucke (*Muskelfaser im polarisirten Lichte;* Handbuch von Stricker Bd. I, 1870 á 1879), señaló en la fibrilla muscular estriada la existencia de una sustancia *anisótropa* (birefringente), alterna con una *isótropa* (monorefringente); la primera forma la estría oscura, y la segunda la clara. La estriación perpendicular del haz se explica por el alineamiento transversal de los artículos homólogos de cada fibra. Defienden opinión semejante Kölliker (*Microscop. Anatom.*, 1850, y *Handbuch der Gewebelehre des Menschl.*, 1859), Gerlach (*Handbuch der Gewebelehre des Menschlich. Körpers,*

1848), Fredericq (*Generation et structure du Tissu musculaire,* 1875), Ranvier (*Leçons sur l' histologie du systéme musculaire,* recueillis par Renaut, 1878, y su *Traité technique,* etc.).

El número de los discos superpuestos formadores de la fibra, ha ido aumentando sucesivamente desde las indagaciones de Amici (*Ueber die Muskelfaser*- tr. del it. por Lambl. Arch. von Virch., 1858), Krause (*Ueber der Bau der quer. gestreiften Muskelfaser,* Gotinger Nachrichten, número 17, 1868, y *Die Querliniën der Muskelfaser in physiologischer Hinsicht.*, Zeitsch. f. Biol. Bd. V., 1869, etc., etc.), Hensen (*Ueber ein Structurverhaltniss der quergestreiften Muskelfaser*, 1868 á 1869, etc., etc.); Engelmann (*Microscopische Untersuchu. ü. die quergestr. Muskelsubs.* Pflüger's Arch. Bd. VII, 1873, etc., etc.). El segmento muscular, tal como hoy se describe, no contiene menos de cuatro estrías oscuras (sin contar la línea de Krause que es el límite del segmento) y cinco claras, isótropas éstas y anisótropas aquéllas. Esta multiplicidad de estrías ha inducido á Rollet á distinguirlas por letras como las bandas de absorción del espectro solar.

Estas fibrillas se describen como libres en todo su curso, excepto al nivel de la línea de Krause, donde se las supone adherentes (Ranvier). Una materia unitiva, que Rollett llama *sarcoplasma* (*Unters. ü. den. Bau der quergestreiften Muskelfaser,* Kais. Ak. d. Wissensch., 1885) las rodea por todas partes, sirviéndoles de medio nutritivo.

La descomposición del haz en fibrillas bajo la acción del alcohol, bicromato, etc., se explica en esta hipótesis, suponiendo que estos reactivos reblandecen ó disuelven la materia unitiva interfibrilar; y la fragmentación en discos de Bowman á favor de los ácidos, se aclara atribuyendo á éstos una acción disolvente exclusiva sobre el disco claro, cerca de la banda de Krause.

3.° *Las fibras musculares se componen de unos pequeñísimos elementos prismáticos (elementos sarcódicos),* que corresponden al disco oscuro (nuestro disco espeso) de las fibrillas. Estos prismas están unidos entre sí por dos cementos: uno *longitudinal* que los pega por los extremos á lo largo del haz, y otro *transversal* que los adhiere por sus caras laterales y en el sentido del grueso de la fibra.

Como los prismas se suponen ordenados con regularidad en dos sistemas de hileras longitudinal y transversal, explícanse fácilmente las dos clases de estriaciones de la fibra muscular, así como la descomposición en fibras por el alcohol que dependería de la solución del cemento transversal, y la en discos por los ácidos, que provendría de la destrucción del cemento longitudinal. Al principio, en esta hipótesis, tal como fué concebida y defendida por Bowman (*On the minute structure and movements of voluntary muscle* Phyl., Tranc., 1840), no se aceptaba la presencia de cementos de unión de los elementos sarcódicos; pero W. Jones (Ann. de Chim. et de Phys. T. X, serie 3,

1844), introdujo la noción del cemento longitudinal *(banda clara* ó monorefringente de los autores) y del transversal *(sustancia interfibrilar)*, y en esta forma fué aceptada por muchos (Frey, Leidig, Margo, Schultze, Cohnheim, etcétera. La hipótesis de los elementos sarcódicos se apoyaba principalmente en la observación ya mencionada por Bowman de la descomposición del haz bajo la influencia del alcohol flojo, unas veces en grandes discos transversales comprensivos de todas las bandas oscuras ó anisótropas de las fibrillas, otras en pequeños prismas correspondientes á dichas bandas aisladas.

Brucke adoptó una opinión semejante, pero añadiendo que los elementos sarcódicos representantes del disco birefringente de la fibrilla están formados á su vez de más diminutos corpúsculos, también birefringentes, que él llamó *disdiaclastos*.

4.° *La fibra muscular es un conjunto de cajas membranosas.* En esta hipótesis, considérase la línea de Krause como un tabique transversal inserto en el sarcolema, que divide el haz en grandes cajas superpuestas. Pequeños tabiques longitudinales (que representan la materia interfibrilar de los autores) anastomosados entre sí, segmentan estos grandes compartimentos en otros más pequeños, dentro de los que se contiene el elemento sarcódico rodeado por todas partes de una materia líquida. Dos hechos condujeron á Krause (loc. cit. y *Die Contraction der Muskelfaser*, Pflügers, Archiv. B. VII, 1873) á una tal suposición: el descubrimiento de la continuidad, en todo el espesor del fascículo, de la línea de su nombre; y la interpretación de que la reticulación que limita los campos de Cohnheim corresponde á la sección óptica de membranas longitudinales. El parecer de Krause ha sido aceptado con leves variantes por Flögel, *(U. die. quergestreiften Muskelf. der Milber.* Schültzs Arch., 1887), Sachs *(Der quergestreiften Muskelfaser. Müller Arch*, 1872); Merckel *(Ueber die Contraccion der quergestreiften Muskelf.*, Schültzs Arch., 1881, etc.) Este último añade á la cajita una nueva membrana transversal como la de Krause, que duplicaría las cavidades, así como los elementos sarcódicos. Su nuevo tabique vendría á corresponder á la banda de Hensen de la fibrilla coagulada.

5.° *El haz muscular es un retículo protoplasmático, emanado de los núcleos y compuesto de redes transversales (membranas de Krause) unidas entre sí por filamentos longitudinales:* Esta hipótesis, sostenida hoy por Melland *(The Quart. of mic. Scien.* número XCIX. an., 1885), y van Geuchten *(La céllule*, T. II, segundo fascíc., 1886), y aceptada por nosotros con algunas variantes, está basada sobre los efectos producidos en la fibra muscular por los ácidos diluídos.

Ya Thin *(On the structure of muscular fibre.* Quart. Jour. of mic. Scienc., 1876), al estudiar las líneas que contornean los campos de Cohnheim afirmó,

que eran la expresión de una red filamentosa transversal alojada al nivel de la línea de Krause, y se hubiera llegado prontamente al concepto que actualmente se tiene sobre la textura del músculo, si Bidermann *(Zur Lehre vom Bau der quergestreiften Muskelfaser.* Sitzungsb. d. math.-nat. classe d. Kai. Akad. Wiss. z. Wien., 1876) no hubiese interpretado aquellas reticulaciones como la sección transversal de los intersticios que separan las columnas de Kölliker, arrastrando la opinión de casi todos los histólogos (Gerlach, Cohnheim, Rollett, etc.)

Retzius *(Zur Kenntniss der quergestreif. Muskelf.*, Biologische Unters., 1885), observando las fibras musculares de las patas del *dysticus marginalis*, preparadas por el proceder de impregnación áurica, vió en el seno de la materia interfibrilar ó sarcoplasma las mismas redes transversales, teñidas en violeta por el oro é irradiadas desde el núcleo hasta el sarcolema. Este autor las distinguió en tres clases: 1.ª, *la red de primer orden* yacente al nivel de la línea de Krause (corresponde á la red que hemos descrito en el texto); 2.ª, *la red de segundo orden*, de parecida disposición aunque más delgada, tendida transversalmente á la altura de la parte media de la banda espesa ó raya de Hensen; y la *de tercer orden*, menos constante, situada entre las dos precedentes. Las mallas de todas estas redes estarían unidas verticalmente por tabiques membranosos (que corresponden á las fibrillas preexistentes que los ácidos revelan en las fibras vivas), los cuales convertirían el haz en un conjunto de cavidades prismáticas, en cuyo interior quedaría alojada la materia contráctil (*columna* muscular de los autores, *fibra-molde* de miosina). Bremer *(Ueber die Muskelspindeln*, etc. Schülze's Archiv. B. XXII, 1883), confirmó en gran parte estos resultados, pero con algunas correcciones importantes. Los tabiques longitudinales son por primera vez tomados por fibras. La red de primer orden de Retzius corresponde, según aquel autor, á las estrías oscuras ó discos espesos de los histólogos, y la de segundo orden á la de Krause-Amici. Los granos violáceos que las fibras presentan en su longitud al encontrarse con las redes transversales, forman las bandas oscuras del haz muscular. La sustancia de los campos de Cohnheim continuó considerándola como la parte activa de la fibra estriada.

Es preciso llegar á Melland para encontrar completamente formulada la teoría del retículo muscular. *(A simplified View of the Histology of the Striped Muscle-fibre.*—The Quart. Jour. of mic. Scienc., 1885). Este histólogo, aplicando el método de la impregnación áurica con el ácido acético á los músculos estriados del *dytiscus marginalis, abeja, rana*, etc., describe en el haz muscular un retículo, de una sustancia *isótropa*, sumergido en una materia semilíquida *anisótropa*. Este armazón fibrilar *(intracellular network)* es tingible por el cloruro de oro, al revés de la sustancia matriz (miosina), que carece de afini-

dad por él, y está formada de hilos longitudinales paralelos (visibles en vivo lo mismo que en las preparaciones acetificadas), unidos de trecho en trecho y en sentido transversal por redes protoplasmáticas procedentes de los núcleos, insertas en el sarcolema y yacentes al nivel de la membrana de Krause ó disco de Bowman. La sustancia matriz, en cuyo seno estas redes y filamentos se contienen, es coagulable y reductible en fibras gruesas y elementos sarcódicos por la acción del alcohol. La formación de fibras depende del hendimiento del haz muscular al nivel de los filamentos verticales (nuestras *fibras preexistentes);* la formación de discos y de elementos sarcódicos procede de la ruptura de la red transversal y materia que la llena.

La estría clara que en el vivo ó en las preparaciones coaguladas se ve debajo y encima de la línea de Krause, se debería á la refringencia de los granos que contiene (nudos de la red transversal situados al paso de los hilos longitudinales), siendo estas rayas de la misma naturaleza óptica que esos círculos brillantes que rodean una gota de grasa vista en agua. Heppener *(Stricker Handbook*, p. 548) y Stricker, consideraban estas estrías brillantes, origen de grandes confusiones, como el efecto de la reflexión total de la luz en el plano de la membrana de Krause, explicación que parece atendible, pues es indudable la existencia en el hueco llamado campo de Cohnheim de una capa ó membrana limitante de la sustancia miósica.

Van Geuchten *(Etude sur la structure intime de la céllule musculaire striée,* 1886), profesa una opinión análoga á la de Melland. Como este histólogo, admite en el haz muscular de los insectos redes transversales (al nivel de las líneas de Krause) unidas por hilos longitudinales, y afirma que este retículo existe tanto en las preparaciones vivas como en las coaguladas por los reactivos (alcohol, bicromatos, etc.), y maceradas en los ácidos ó álcalis. La miosina coagulada no forma, según él, los elementos sarcódicos entre las fibras longitudinales, sino en torno de las fibrillas vivas, sobre las que se depositaría como la fibrina en las varillas que sirven para agitarla.

El reticulum fibrilar es *isótropo,* formado por una materia resistente á los ácidos, probablemente la *plastina;* en él residen la propiedad contráctil y representa al armazón filamentoso de las células; la sustancia que llena las mallas de la red es semilíquida, *anisótropa*, amorfa, coagulable, puramente pasiva, y es homóloga al enquilema ó jugo celular.

La ruptura de la fibra muscular en hebrillas en las preparaciones coaguladas, la explica este autor por la friabilidad de la red transversal (membrana de Krause), que une lo que él llama los *bastones de miosina* (fibrillas preexistentes con el coágulo), y por la existencia entre éstos de espacios llenos por el enquilema no coagulado del haz muscular. La descomposición en discos bajo la acción del alcohol (hecho que ya descubrió Bowman), así como la formación

de los elementos sarcódicos, dependería de la fractura del bastón miósico cerca de la línea de Krause, punto en que ofrece gran delicadeza.

Como acabamos de ver, las hipótesis explicativas de la constitución íntima del músculo son numerosísimas, y distamos mucho, por desgracia, del día en que, terminado el período constituyente ó de elaboración doctrinal, todos los histólogos se identifiquen en un mismo dictamen. Con el ánimo de ver cuál de estas hipótesis se adecuaba más á los hechos, y poder juzgar de la significación de las mismas, hemos procurado estudiar, con ahinco, aunque con desconfianza del éxito, esta debatidísima cuestión. Para ello hemos sometido á riguroso examen las experiencias de todos, estudiando la fibra de preferencia en los insectos (coleópteros, ortópteros, lepidópteros, etc.), ya en las patas, ya en las alas, ora en las larvas, ora en el estado perfecto, viniendo después á las fibras musculares de los vertebrados (rana, conejo, conejillo de Indias, peces, reptiles), y las conclusiones de estos trabajos coinciden con las opiniones anteriormente expuestas de Melland y van Geuchten (véase *Textura de la fibra muscular estriada* en el Bol. del Inst. Méd. Valenciano, Junio, Julio y Agosto, 1887, y el trabajo *Observations sur la texture des muscles des ailes et des pattes des insectes*. Intern. Monatschr. Dic., 1887). Sepárome, no obstante, de estos autores en algunos puntos importantes, como se habrá visto por el texto. En primer término, no puedo aceptar que la membrana de Krause consista simplemente en un retículo transversal, pues cuando se la examina en los discos de Bowman fuertemente teñidos, se presentan los campos de Cohnheim, llenos y no vacíos. La materia que tapa estos campos es homogénea y resistente á los ácidos, y puede verse, bajo la forma de disco delgado, en las fibras (*coagulum* muscular) que el alcohol produce en el haz, tanto en las preparaciones simplemente coloreadas como en las tratadas por los ácidos y álcalis. Esta membrana, por otra parte, es evidentísima en las *fibras-moldes* de los elementos musculares de las alas. En segundo término, paréceme que se equivoca Geuchten al suponer que las fibras *(battonets de miosine)* que los coagulantes determinan en el haz, son las fibras preexistentes sobre las que se ha depositado un coágulo miósico. Si tal sucediera, los ácidos revelarían en el bastón miósico una fibrilla central, cuando precisamente la revelan, si el haz muscular no está disociado, entre los bastones, y además los cortes transversales nos mostrarían el *coagulum,* no llenando el campo de Cohnheim, como efectivamente sucede, sino arrancado de los nudos de la red. Geuchten nos parece haber desconocido (y en parte el mismo Melland) el hecho importantísimo de la rápida descomposición de las fibrillas preexistentes. Este desconocimiento, y el prejuicio de que las fibras-moldes contienen en sí la fibrilla preexistente, le lleva á la imposibilidad de comprender la significación de la fibra-molde de los músculos de las alas, donde, no pudiendo

encontrar su fibra de plastina, hace de estos músculos variedad aparte, y describe, en vez de retículo, cilindros huecos tabicados transversalmente por membranas (véase nuestro trabajo antes citado).

8. — **Unión de las fibras musculares y tendinosas.** Los haces musculares terminan por cabos redondeados y adelgazados cubiertos por el sarcolema, que se implantan casi siempre en el tejido fibroso, bien en los haces de un tendón ó aponeurosis, bien en los del tejido conectivo laxo (dermis de la lengua, dermis de la piel, etc.) En los articulados, las fibras pueden continuarse consigo mismas, formando red (capa muscular del esófago de muchos insectos) ó insertarse directamente en células epiteliales (músculos cutáneos de las larvas, etc.).

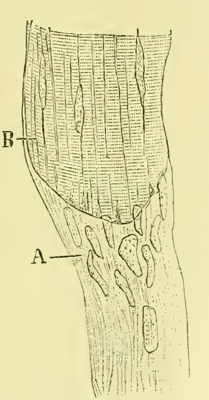


Fig. 139.—Unión de un haz muscular con un fascículo tendinoso.—Ácido fórmico y cloruro de oro.—A, haz tendinoso; B, materia estriada.

En los músculos de vertebrados, el modo de unión más común tiene lugar por la soldadura del extremo del haz con el cabo ligeramente ensanchado del fascículo tendinoso: en tal caso, el haz conjuntivo continúa la dirección de la fibra muscular. Pero frecuentemente, los manojos tendinosos reciben haces musculares, no sólo por sus extremos, sino por sus lados, de manera que un solo haz de fibras conectivas transmite la energía de muchas fibras contráctiles.

La adherencia del tendón al músculo tendría lugar, según Weismann, mediante un cemento soluble en la potasa, situado entre el sarcolema y los cabos tendinosos. Ranvier señala la presencia de dos cementos: uno fuerte, casi inatacable por los reactivos, situado entre el tendón y el sarcolema, y otro frágil, soluble en la potasa, susceptible de reblandecerse por una temperatura de 55° (en la rana), colocado entre el sarcolema y el extremo de la misma sustancia estriada. La presencia del primer cemento es indudable; no así la del segundo. Si la potasa, el agua caliente y los ácidos apartan la materia contráctil del fondo terminal del sarcolema, esto no depende de la disolución de una sustancia de unión, sino de la

ruptura, por hinchazón y retracción del material estriado, de los enlaces sarcolemáticos de las fibrillas preexistentes y redes transversales. Dichas fibrillas preexistentes se ensanchan en su adherencia al sarcolema, ofreciendo en los preparados impregnados por el cloruro de oro un nódulo piramidal teñido de violeta. Los núcleos del sarcolema son algo más abundantes en esta región que en el resto de la fibra, y no es infrecuente verlos en el espesor ó continuidad de dichos engrosamientos.

9.—**Asociación de las fibras musculares.** El haz muscular, llamado también *fibra muscular*, se asocia con otros á favor de un tejido conectivo laxo muy poco abundante, donde está situada la red capilar, muy rica, de mallas cuadrilongas paralelas á las fibras. Los capilares son tortuosos, á veces helicoides, para adaptarse fácilmente á los estados de retracción y relajación del músculo. Los grupos que resultan de la asociación de los fascículos primarios están individualizados por tabiques conjuntivos más gruesos, recorridos por las arteriolas y venillas de algún calibre. Estos nuevos manojos se han denominado *haces secundarios*, y son perceptibles en su mayor parte á la simple vista. De la asociación de los secundarios en paquetes voluminosos y macroscópicos se forman los *manojos terciarios*, separados entre sí por tejido conectivo más abundante, rico en fibras elásticas y á veces en células adiposas. Por último, la totalidad de estos haces, individualizándose por una cubierta aponeurótica fuerte, originarían el músculo. A esta cubierta exterior llaman ciertos autores *perimisio externo*, reservando, para el conjunto de tabiques conjuntivos interiores del músculo, la designación de *perimisio interno*.

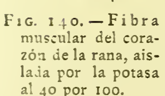


FIG. 140.—Fibra muscular del corazón de la rana, aislada por la potasa al 40 por 100.

10.—**Fibras cardíacas.** Las fibras musculares del corazón son estriadas y de contracción brusca, pero ofrecen algunas particularidades que les son propias.

Su *forma* es alargada, cilíndrica ó prismática; su circunferencia no es libre en toda su extensión como en los haces ordinarios, sino que á menudo emite apéndices ó prolongaciones de materia estriada que se anastomosan con los vecinos elementos: de aquí el aspecto reticulado que caracteriza la trama cardíaca vista al microscopio. Los extremos de las células están cortados bruscamente por superficies irregulares, como escalariformes.

En los pequeños mamíferos (rata, conejo indiano, etc.), los cabos de las fibras son algo más delgados que el centro (fig. 141); y en los vertebrados inferiores (la rana, por ejemplo), las fibras son tan puntiagudas que reproducen casi exactamente la configuración de las fibras musculares lisas. Estos elementos poseen rara vez ramificaciones por sus lados, y para formar el haz muscular se asocian varios de ellos por yuxtaposición y engranaje de sus extremos.

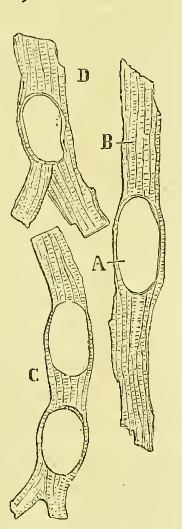


Fig. 141.—Fibras cardíacas del conejo de Indias aisladas por la potasa al 40 por 100.—A, núcleo cuya cromatina ha sido disuelta; B, materia estriada; C, célula con dos núcleos; D, célula ramificada.

El cemento que junta las fibras cardíacas al nivel de sus anastomosis, es muy resistente á la disociación; tíñese en negro por el nitrato de plata, y es destructible por la potasa en solución concentrada.

La *estatura* de los elementos cardíacos es muy variable (de 40 á 60 μ en el carnero): su grueso es de 12 á 20 μ en los grandes mamíferos.

La *estructura* es análoga á la de las fibras estriadas ordinarias. Comprende el *sarcolema*, el *núcleo* y la *materia estriada*. El *sarcolema* es una cutícula hialina, elástica, íntimamente aplicada á la fibra, y de tal delicadeza que su existencia ha sido negada por muchos micrógrafos. El *núcleo* es único, pocas veces dable, elíptico ú oval, á menudo casi tan grueso como la fibra (rana, conejo), en cuya parte central se halla. Cuanto á la sustancia estriada, exhibe análogo aspecto que la de los fascículos estriados comunes, pero su trama es más apretada y difícil de discernir.

Para hacer más evidentes los detalles de la materia estriada, conviene examinar las fibras cardíacas de los grandes mamíferos (carnero, vaca, etc.), y utilizar el proceder de impregnación al cloruro de oro en combinación con los ácidos. En estas preparaciones los haces se muestran rojizos, transparentes y con tendencia, aunque no tan acentuada como en los músculos ordinarios, á quebrarse en discos transversales.

Vistos los haces á lo largo, exhiben muy claramente las fibrillas preexistentes, que son gruesas, violáceas, provistas de dilataciones alargadas y bicónicas, situadas unas veces al nivel de la banda ancha, otras en la estría de Krause, y otras, en fin, en ambos parajes. Estos nódulos están más fuertemente impregnados por el oro que el resto de la fibrilla. Las rayas de Krause son finas, muy pálidas y se insertan lateralmente en el sarcolema, el cual, como en las fibras estriadas comunes, está hundido al nivel de los puntos de implantación. Los núcleos son elipsoides, incoloros, y de sus extremos parten uno ó más *tractus* protoplasmáticos, teñidos en violeta y continuados por el eje del haz; estos apéndices, que están unidos á las redes transversales y son muy anchos en su origen, representan simplemente hebras preexistentes más gruesas que las otras. El cemento de unión de los cabos de los haces se muestra homogéneo, refringente, refractario á los ácidos é incolorable por el oro; corresponde siempre á una membrana de Krause y recibe por sus caras los extremos de las fibrillas preexistentes de las células musculares contiguas. El punto de inserción de cada hebra está situado precisamente encima de la fibrilla subsiguiente del haz vecino; así, que á primera vista aquéllas parecen continuas entre sí. El sarcolema no está roto en su contacto con el cemento interfascicular, sino que se confunde con éste sin límites de separación, semejando, aunque esto no puede asegurarse, que existe continuidad sustancial entre ambas partes.

Los cortes transversales muestran redes de mallas estrechas, poligonales, á veces irradiadas, que parten del núcleo ó de sus apéndices protoplasmáticos axiales y se insertan en el sarcolema. Las nudosidades son voluminosas, comúnmente triangulares y con ellas se enlazan las fibrillas preexistentes. El punto de inserción sarcolemático de cada trabécula de la red está casi siempre guarnecido de

un nódulo triangular, cuyos enlaces en el sentido longitudinal del haz constituyen la primera hilera de las fibrillas preexistentes.

La potasa al 40 por 100 revela también, aunque con menos claridad, todos estos detalles. El sarcolema, las líneas de Krause y los hilos longitudinales resisten, mientras que la materia de la banda espesa se reblandece y transparenta, así como el cemento de unión que concluye por disolverse.

La coagulación por el alcohol produce iguales efectos que en las fibras estriadas comunes: fórmanse fibras-moldes provistas de las dos estrías ancha y delgada, y entre ellas se ven series de granos gruesos y brillantes, que algunos autores han tomado por grasa, y que no son sino las dilataciones de las fibrillas preexistentes semifragmentadas. Los cortes transversales de estos preparados convenientemente teñidos y empotrados en parafina, muestran la sección de las fibras-moldes y unos espacios claros reticulados que corresponden á las redes transversales.

En suma: las fibras cardíacas de los mamíferos difieren de las estriadas ordinarias: 1.°, en que son más cortas, y sus extremos, en vez de rematar por cabos redondeados insertos en tendones, se unen entre sí á favor de un cemento y mediante superficies planas ó escalariformes; 2.°, en que el sarcolema es sumamente tenue, imperceptible en las preparaciones coaguladas y sólo revelable por los ácidos y álcalis; 3.°, en que las membranas de Krause están más próximas y las fibras preexistentes yacen más apretadas; 4.°, en que el núcleo es casi siempre único y central á la manera del de los haces estriados de las patas de ciertos insectos *(dytiscus marginalis vespa, apis,* etc.)

11.—**Caracteres químicos del tejido muscular.** Los materiales esenciales que constituyen la fibra muscular son la *miosina,* la *sintonina* y la *plastina* de Reinke. La miosina y la sintonina constituyen probablemente las bandas anchas ó enquilema muscular; mientras que la plastina entra verosímilmente en la construcción de la red transversal y filamentos longitudinales. Los núcleos contienen *nucleína,* soluble en la potasa, y el sarcolema parece formado de un principio análogo á la *elastina,* por su gran resistencia á los ácidos y álcalis.

Danilewsky considera el armazón muscular (lo que no se di-

suelve por los ácidos diluídos), compuesto de dos sustancias: una *albuminoide,* dispuesta en gránulos y soluble en los líquidos digestivos concentrados; y otra idéntica á la *lecitina,* y atacable por el éter-alcohol á 40°. Además de estas sustancias, cuya localización es bastante probable, existen otras muchas cuyo sitio se ignora; quizás formen parte del plasma muscular y estén destinadas á la asimilación ó á la eliminación. Entre éstas figuran una serie de principios albuminoides solubles é insolubles que se encuentran en el plasma muscular obtenido por presión. Entre los solubles, uno coagula á temperatura de 35 á 90°, otro es el *albuminato de potasa* (Kühne), y otro, semejante á la *serina* de la sangre, coagula á 79°.

Añadamos que en el tejido muscular se han encontrado cási todos los principios del suero sanguíneo, grasas, azúcares, amidas, etcétera, etc.

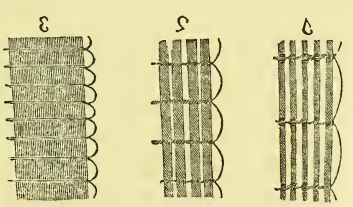
12.—**Propiedades fisiológicas de las fibras musculares.** La actividad fisiológica, para la que el corpúsculo muscular está especialmente diferenciado, es la contracción que se realiza, bien por estímulo de los nervios motrices (fluido nervioso, corrientes eléctricas), bien irritando directamente la sustancia contráctil, por medios mecánicos ó químicos. La contracción de la fibra muscular no tiene lugar en todos sentidos como la de los elementos embrionarios, sino únicamente en la dirección de su eje, acortando su longitud y aumentando su grueso. Desde los trabajos de Aeby, se sabe que la retracción del músculo se determina por espesamientos locales, llamados ondas de contracción, que comienzan al nivel del punto irritado y se extienden en dirección opuesta hasta las extremidades. Cuando se estimula el músculo por medio de las corrientes de inducción se produce una serie de ondas que, acumulándose en la fibra en breve espacio de tiempo, producen la impresión de una contracción total y permanente. Créese que la voluntad obra del propio modo, determinando una serie de ondas muy próximas y rápidamente sucedidas.

a.—*Mecanismo de la contracción.* Dos cuestiones hay que distinguir aquí: la causa que determina la contracción y el modo como ésta se realiza. La primera constituye un problema oscurísimo, sobre el cual discuten y discutirán mucho tiempo los fisiólogos. La exposición de los diversos pareceres no puede tener aquí cabida:

únicamente expondremos la opinión de Marey que nos parece sumamente razonable. Como consecuencia de una descarga nerviosa, la glucosa, y quizás otros materiales hidrocarbonados del músculo, se combina con el oxígeno; la combustión engendra cierta cantidad de calor, que es aprovechado inmediatamente por la fibra, transformándolo en fuerza mecánica. La trama de la fibra representa, pues, una máquina destinada á transformar, como la locomotora, el calor en movimiento.

El modo como se realiza la contracción es ya asunto de la competencia de los histólogos. Para estudiarlo, se han escogitado dos métodos: 1.°, *examen de la onda de contracción en las fibras vivas;* 2.°, *examen de las ondas fijadas por el alcohol, ácido ósmico,* etc.

b.—*Observación de la onda de contracción en las fibras vivas.* Se realiza ordinariamente en los músculos de las patas del hidrófilo conservados en el plasma del mismo insecto. El examen no deja de ofrecer dificultades. Si se elige un haz muscular recorrido por rápida onda de contracción, es imposible apreciar los cambios ocurridos en las estrías, pues el objeto se desfoca y antes de que el foco se restablezca, ha pasado la onda y con ella el momento útil del examen. Por otra parte, la mayor parte de los haces presentan con tal vaguedad los hilos preexistentes, que cuesta mucho trabajo apreciar los cambios de éstos durante la contracción. Para vencer la dificultad en parte, es preciso elegir una fibra cuyas fibrillas preexistentes sean bien claras, y que, ó esté sometida á leves sacudidas, ó sea asiento de una contracción casi permanente. En tal caso, pueden apreciarse tres zonas:


Fig. 142. — Esquema de la contracción en las fibras vivas de las patas del hidrófilo. — 1, comienzo de contracción; 2, semicontracción; 3, contracción enérgica; los hilos longitudinales son invisibles.

1.° *Zona relajada.* Igual á la normal de los haces vivos. Las líneas de Krause gruesas, muy apartadas y con sus granos refringentes. Los hilos preexistentes delgadísimos y casi todos sin abultamiento en el disco espeso.

2.° *Zona de semicontracción.* Las bandas de Krause se aproximan,

pierden su aspecto granuloso y se adelgazan considerablemente: las fibras preexistentes, mucho más cortas, se engruesan al nivel del disco espeso, formando unas veces un cilindro espeso, otras un abultamiento bicónico brillante. Al mismo tiempo el haz se ensancha, y el sarcolema, dilatado por cierta cantidad de plasma, se despega de la sustancia contráctil, formando festones muy próximos. En el fondo de estos festones, que corresponden á repliegues circulares paralelos, se percibe con toda limpieza la unión del sarcolema con las rayas delgadas ó de Krause. Al propio tiempo aquellas bandas brillantes (disco claro de los autores) que limitan los extremos del disco espeso, disminuyen en claridad ó desaparecen del todo.

3.° *Zona de contracción enérgica.* Las bandas delgadas están sumamente próximas y los discos espesos apenas alcanzan la tercera ó cuarta parte de su altura ordinaria. Los pliegues del sarcolema se acentúan todavía más, y los núcleos forman eminencias considerables por fuera de la fibra. La delgadez y vaguedad de la raya de Krause aumenta y sus granos han desaparecido del todo. Las fibras preexistentes, cortísimas y difíciles de percibir, exhiben un grueso ensanchamiento en el centro del disco oscuro. Frecuentemente, cuando la onda de contracción no interesa más que una zona limitada del haz, las fibras preexistentes se tocan, siendo muy difícil discernir sus límites, así como su forma.

c.—*Estudio de la onda fijada por los reactivos.* Antes del descubrimiento de los hilos preexistentes se proponían como medios fijadores el alcohol y el ácido ósmico; pero sabemos que estos reactivos coagulan la miosina que propende á quebrarse en columnas y alteran y rompen los filamentos preexistentes. Las revelaciones de estos reactivos no se refieren, pues, á la parte importante del haz, sino á lo accesorio.

Mayor crédito merecen las imágenes obtenidas por los ácidos y cloruro de oro. Las ondas de contracción, fijadas por estos reactivos, muestran los mismos detalles que las fibras examinadas en vivo. En ellas cabe distinguir también: 1.° *Zona relajada* con membranas de Krause gruesas, apartadas y sembradas de granos refringentes alargados; hilos preexistentes delgados y casi todos sin engruesamiento. 2.° *Zona contraída* con membranas de Krause delgadísimas sin granos y apenas visibles, fibras longitudinales cortas

y engruesadas en forma de doble huso; estrías espesas sumamente estrechadas. 3.º *Zona semicontraída*, igual á la anterior, pero con indicio de granos en la membrana de Krause, menor espesor del nódulo longitudinal de los hilos, y estrías espesas más anchas.

En resumen: la contracción depende del acortamiento y engrosamiento de los hilos longitudinales del *reticulum;* el líquido miósico, apretado entre las membranas de Krause, dilata la fibra en sentido transversal y estira las líneas de Krause y sus redes, lo cual explica bien la vaguedad extrema de la línea de Krause durante el paso de la onda. Esta vaguedad se debe probablemente también á la disminución de la refringencia de la estría delgada, lo que explicaría el desvanecimiento durante la contracción de las rayas brillantes. El *estado homogéneo* es sólo aparente y depende de la palidez de la raya de Krause y de la desaparición de sus granos; pero por enérgica que sea la retracción del músculo, siempre cabe con buenos objetivos discernirla, así como las fibras preexistentes. En cuanto al fenómeno de *inversión* de las estrías, citado por Merkel, Engelman, Fredericq, etc., no hemos logrado observarle en las fibras vivas. La desaparición durante el paso de la onda de los granos de la línea de Krause, y su aparición en la parte de las fibras preexistentes que corresponde al disco espeso, prueban que, en la contracción de éstas, no hay sólo acortamiento, sino traslación de la materia refringente de los granos. Esta materia movediza, que es precisamente la que el oro tiñe en violeta y muestran con claridad las fibras tratadas por los ácidos ó álcalis, podríasela llamar materia *aurófila* ó *kinética.*

13.—**Opiniones relativas al mecanismo de la contracción.** Los primeros observadores pensaron que el acortamiento del músculo se debía á una inclinación en zig-zag de sus fibrillas constituyentes. Pero la ausencia de semejante inclinación en las fibras vivas, asiento de contracción, fué causa de que se abandonara pronto esta opinión. Con ella se enlaza la de Rouget, quien observando la forma espiroidea del estilo de inserción de la *vorticela* y su acortamiento por la aproximación de sus vueltas de espira, pensó que una cosa análoga sucedía en la contracción muscular con la fibrilla elemental.

a.—*Teoría de Brucke.* Los elementos sarcódicos constan de pequeñísimos elementos prismáticos, llamados *disdiaclastos* por su propiedad birefringente. Durante el reposo de la fibra, estos corpúsculos, que son muy alargados, están orientados en el mismo sentido del haz muscular; pero en el estado

de contracción dichos elementos se vuelcan, colocándose de través, con lo cual la fibra muscular se acorta al propio tiempo que se engruesa.

Los autores que después de Brucke han estudiado la contracción, se han preocupado especialmente de inquirir y explicar los cambios siguientes, que se suponen acompañar al acortamiento de la fibra: la *desaparición de las rayas brillantes* (partes extremas más claras del disco espeso), al *estado homogéneo* (desaparición supuesta de toda apariencia estriada), y la *inversión* de las estrías (conversión en oscuras de las estrías claras y viceversa).

b.—*Teoría de Krause* (1868). Partiendo de su concepción de las cajas musculares, la explicación de la contracción resulta sencillísima. En la relajación el líquido de la caja está situado entre los elementos sarcódicos y la membrana transversal (membrana fundamental); pero durante la contracción, dicho líquido se escurre hacia los lados, al mismo tiempo que la membrana transversal se aplica á los extremos de los prismas musculares: de esta suerte el diámetro longitudinal del haz muscular disminuye mientras que el transversal aumenta. El elemento sarcódico permanece totalmente pasivo durante todos estos cambios.

Más recientemente (1873) Krause ha modificado algo su hipótesis. Afirma que su prisma muscular es un haz de delgadísimos elementos longitudinales, susceptibles de apartarse y aproximarse. Durante la contracción, el líquido situado junto á la membrana transversal se insinúa entre los filamentos: de aquí la hinchazón de las fibras musculares, así como su engrosamiento transversal. La penetración del líquido es un fenómeno pasivo, debido á la aproximación longitudinal ocurrida en los filamentos sarcódicos, bien bajo el impulso nervioso, bien por la influencia del galvanismo. En esta hipótesis se explica el *estado homogéneo* por la desaparición del líquido de las cajas: en cuanto á la *inversión* de las estrías, asegura este histólogo que tal fenómeno es pura apariencia.

c.—*Teoría de Merckel* (1882). Recuérdese que este autor considera la caja de Krause dividida por un tabique transversal (tabique medio), situado en la estría de Hensen, en dos semicajas superpuestas. El prisma muscular resulta así dividido también en dos prismas anisótropos flotantes en sus cajas respectivas. Durante el comienzo de la contracción, la sustancia de los prismas se mezcla con el líquido y la fibra adquiere el *estado homogéneo:* en la contracción completa la materia de los prismas se aplica, desembarazándose del líquido que la embebe, sobre la membrana de Krause (tabique terminal), dando lugar á la *inversión* de la estriación, pues que el líquido, que es mucho menos refringente, se acumula contra el tabique medio.

d.— *Teoría de Ranvier* (1875). Recuérdese que, para este autor, el haz consta de fibras separadas por una materia plasmática. Las fibrillas muscu-

lares (análogas á nuestras fibras-moldes) constan: de discos oscuros, especie de prismas muy alargados y eminentemente contráctiles; y de discos claros, pasivos, pero sumamente elásticos. Al nivel de la línea de Krause, situada en el centro de las bandas claras, las fibras están unidas transversalmente. El espesamiento del haz durante la contracción se debe á dos causas: á la contracción del disco oscuro que de alargado se torna esférico, y á la expresión del plasma que lo embebe, el cual se aloja entre las fibrillas, en los intervalos de las membranas de Krause.

e.—*Teoría de Engelman* (1872). Según este autor, la materia anisótropa (disco oscuro de los autores) es la sola susceptible de contraerse: la isótropa (banda clara de los autores) es inactiva, pero no es líquida como algunos suponen, sino semisólida y elástica. La sustancia anisótropa está constituída de ciertas moléculas alargadas y dotadas de gran poder de imbibición. Durante la contracción, estas moléculas se hacen esféricas y absorben el agua de las partes isótropas (estría clara). Como consecuencia de esto, la fibra engruesa y las membranas transversales se aproximan. El estado de *inversión* se explica por la condensación y aumento de refringencia que sufre la sustancia de las estrías claras al perder el líquido que la empapaba. Un principio de hinchazón de las partículas anisótropas, combinado con un principio de condensación de la sustancia isótropa, da el *estado homogéneo,* que se presenta cuando la contracción se inicia.

f.—*Teoría de Fredericq* (1875). Comprueba este autor en las fibras vivas del hidrófilo los fenómenos del *estado homogéneo* é *inversión* de las estrías, y trata de explicarlos de manera muy semejante á la de Merckel, cuyo parecer respecto de la textura de la fibra admite. Pero más adelante (1876) poco satisfecho de su primera opinión, y habiendo observado que la inversión de la estriación no se confirma á la luz polarizada, da como probable la siguiente hipótesis: Los discos anisótropos contienen dos sustancias: una birefringente, fija, que ocupa siempre el lugar del disco oscuro; y otra oscura, colorable por la hematoxilina y susceptible de variar de lugar durante la contracción.

Merckel (1881) apoya este parecer, modificándolo un tanto, salvando siempre, por supuesto, su hipótesis fundamental de las dobles cajas. Llama sustancia *kinética* á la materia oscura tingible á la hematoxilina de Fredericq, y materia *disdiaclástica* á la birefringente. El líquido de las bandas claras lo conoce con el nombre de sustancia *plasmática.* Sentado esto, y para conciliar el hecho de la no *inversión* á la luz polarizada según Fredericq, y el de la *inversión* según sus observaciones, afirma que la materia birefringente no permanece siempre en el disco oscuro durante la contracción, sino que puede dislocarse, aplicándose al tabique terminal (línea de Krause); ó en otros tér-

minos, unas veces la materia kinética se colocaría sola junto al disco terminal, permaneciendo la disdiaclástica aplicada al tabique medio (línea de Hensen), y otras iría en su excursión acompañada de la disdiaclástica.

g.—*Teoría de Geuchten* (1886). Niega este autor la proposición de Engelman de que no hay contracción sino en las materias anisótropas, y deposita en el retículo la actividad contráctil. Durante la contracción, las trabéculas longitudinales de la red se espesan, adquiriendo la forma de un doble cono y poniéndose casi en contacto; las redes transversales se aproximan y el haz muscular se acorta. En la relajación, las trabéculas longitudinales se estiran, desapareciendo la nudosidad del disco espeso, y las bandas de Krause se distancian.

La *inversión* de la estriación proviene de que algunas veces, durante la contracción en el vivo, el espesamiento de las trabéculas longitudinales en vez de realizarse en el centro del disco espeso, tiene lugar junto á la línea de Krause ó en la misma línea; de lo cual resulta que la zona central del disco espeso se muestra más clara que la extrema. El estado *homogéneo* lo refiere, no á la contracción misma, sino á un estado particular de la trama estriada en las inmediaciones de la onda. Las redes transversales de estas zonas supone que, á causa del movimiento de retracción sobrevenido en sus cercanías, son violentamente distendidas y desarregladas, así como los hilos longitudinales, tornándose unas y otras invisibles.

Nosotros aceptamos en principio la teoría de la contracción de van Geuchten, y como este autor entendemos que la propiedad contráctil reside en las trabéculas longitudinales del haz; pero no podemos asentir de igual manera á los demás extremos de su hipótesis. El fenómeno del *estado homogéneo*, según nuestras observaciones, no se presenta alrededor de la onda, sino en la onda misma, y frecuentemente en el estadio de máxima retracción, por lo cual no puede atribuirse á la causa invocada por este autor (fig. 142, 3). La explicación dada de la inversión, suponiendo que este fenómeno sea cierto (nosotros no hemos podido comprobarlo), no parece más legítima. Para que pudiera afirmarse que la retracción de las fibrillas se produce algunas veces cerca de las rayas de Krause, se necesitaría haber sorprendido durante la contracción en el vivo ó en las ondas fijadas por los ácidos, cloruro de oro, etc., el engrosamiento de los granos refringentes que encierra dicha banda, cuando precisamente ocurre que desaparecen y que la red transversal de puro adelgazada y hialina apenas se percibe.

14.—**Desarrollo.** Las fibras musculares descienden de los elementos conjuntivos del mesodermo. Cada fascículo procede de una sola célula, por diferenciaciones y evoluciones sucesivas.

El proceso comienza en el embrión humano, del segundo al tercer mes, en el seno de las células conectivas que envuelven las protovértebras. Estas células son alargadas, terminadas en punta, con un núcleo voluminoso y un protoplasma casi hialino; cierta cantidad de una sustancia transparente semilíquida les sirve de cemento de unión. Del tercero al cuarto mes, comienzan las metamorfosis del protoplasma. La célula se alarga mucho más y los núcleos se multiplican, colocándose de distancia en distancia en el centro del protoplasma, el cual se halla algo abultado al nivel de los mismos. En la parte periférica de la célula, se advierte una capa delgada de sustancia estriada que va engruesando sucesivamente. Los cortes transversales (fig. 143) muestran bien las relaciones de la materia estriada con la granulosa; en el centro del corte aparece el eje protoplasmático que encierra los núcleos, y en la periferia una corteza completa en ciertos sitios, incompleta en otros, dotada de gran refringencia y formada por las fibras estriadas cortadas de través. Conforme avanza la evolución, el eje protoplasmático se adelgaza y los núcleos, oprimidos en cierto modo por la materia estriada, salen por las ventanas ó discontinuidades de ésta para colocarse en la superficie debajo del sarcolema.

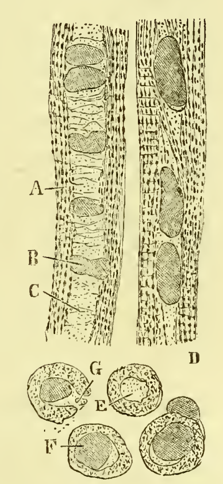


Fig. 143.—Fibras musculares embrionarias de un feto de vaca. La porción superior de la figura muestra dos trozos de fibras vistos á lo largo; y la inferior, varias de éstas seccionadas de través.—A, sustancia estriada; B, núcleo; C, protoplasma donde se notan algunos hilos transversales; E, eje protoplasmático; F, núcleo; G, ventana destinada á dar paso á los núcleos.

La formación de las estrías se debe á la regularización del retículo protoplasmático. La transformación puede seguirse en ciertas fibras embrionarias, gruesas (feto de vaca), notándose cómo las rayas transversales (membrana de Krause) se continúan con hilos también transversales, pero tortuosos, del eje protoplasmático. Asimismo, los filamentos irregulares, de dirección casi longitudinal del retículo protoplasmático se alinean, pierden sus curvas, se engruesan y forman los hilos preexistentes. Luégo, en las mallas de esta red especializada se deposita la miosina y demás principios albuminoides del músculo.

En las larvas de *pleurodelo, salamandra, axolote,* el proceso tiene lugar casi lo mismo; sólo que las células embrionarias destinadas á la evolución, depositan la materia estriada, no alrededor, sino por un lado del protoplasma. Los núcleos, exteriores desde el principio del desarrollo, al acabarse éste, se hacen intersticiales por un mecanismo que se ignora.

Fibras de Purkinje. Debajo del endocardio de ciertos mamíferos (cordero, vaca, cabra, etc.), existe una red de fibras translúcidas, cuyas mallas presentan una forma y dimensiones muy variables. Cada una de estas fibras aparece formada, vista al microscopio, de una ó más hileras de células poliédricas yuxtapuestas, y tan íntimamente unidas como las que constituyen los epitelios. Estas células encierran dos núcleos alargados de pequeño tamaño, y un protoplasma abundante y granuloso, rodeado por una capa más ó menos espesa de materia estriada. Examinando aquellas zonas en que la red de Purkinje se continúa con la normal del miocardio, se observa que la cantidad de materia estriada aumenta á medida que el protoplasma disminuye, y que en ciertos parajes los elementos se alargan y adquieren los caracteres morfológicos de las células cardíacas adultas.

Las fibras de Purkinje representan elementos cardíacos en evolución (Ranvier). Como las fibras estriadas comunes, comienzan por rodearse de una corteza de material estriado que gana terreno á expensas del protoplasma; pero á diferencia de ellas, cuyos núcleos se hacen periféricos, aquí quedan definitivamente encerrados en el espesor de la célula.

15.—**Preparación del tejido muscular.**—a. *Fibras lisas.* Para estudiar las fibras lisas pueden utilizarse tres procederes principales: la disociación, los cortes y la distensión.

La *disociación* debe efectuarse químicamente. En un tubo de ensayo que contenga ácido nítrico al cuarto, se abandonarán por dos ó más días pedazos de tejido muscular del intestino, vejiga, etc., de un vertebrado. Al cabo de este tiempo, el cemento de unión es destruído y las fibro-células se desprenden y aislan por simple agitación del líquido. La conservación podrá efectuarse en glicerina, previo lavado de la preparación, á fin de purgarla del ácido que contiene. Las preparaciones así obtenidas son muy bellas bajo el punto de vista de la disociación; pero se tiñen mal por los reactivos y el núcleo apenas se distingue.

Para obtener elementos cuyos núcleos sean tingibles por el carmín, hematoxilina, etc., convendrá obtener la disociación por el alcohol al tercio, siguiendo el manual operatorio ya descrito con ocasión de la preparación de los epitelios. También la potasa puede aprovecharse como aislador; pero este reactivo es de difícil manejo y todavía altera más profundamente los núcleos que el ácido nítrico.

Los cortes se ejecutarán en trozos de esófago, estómago, intestino, etc., previa induración en alcohol y englobamiento en goma, celoidina ó parafina.

La distensión es particularmente aplicable á membranas transparentes que contienen fibro-células. Supongamos que se trata de la vejiga de la rana: un trozo de este reservorio se extenderá por semidesecación sobre un porta-objetos; luego se lubrificará durante algunos minutos por el alcohol absoluto, á fin de fijar sus elementos; en seguida se hará actuar sobre él por breves instantes una solución alcohólica de eosina, y por último se depondrá en el preparado una gota de solución concentrada de hematoxilina. Una vez lavada la membrana y montada en glicerina, mostrará, teñidos en violeta, los núcleos de las fibro-células y de los corpúsculos epiteliales, y de rosa más ó menos intenso los protoplasmas.

b.—*Fibras musculares estriadas.* Conviene estudiarlas en el vivo y tratarlas por diferentes reactivos: cloruro de oro, ácidos, álcalis, alcohol, ácido crómico, etcétera, etc.

Examen en vivo. A este fin son preferibles las fibras de las patas de los insectos (hidrófilo, escarabajo, cucaracha, etc.). Si operamos en el hidrófilo, debemos comenzar por arrancar una pata al animal y recoger el plasma que rezuma de la herida sobre un porta-objetos. Acto continuo se corta, á favor de tijeras finas, un pedazo del paquete muscular que aparece en el muñón, ó un trozo de los músculos interiores de las patas; se traslada la masa viva rápidamente al porta-objetos y se cubre con una laminilla, evitando ejercer sobre las fibras la menor presión. Si la maniobra se ha ejecutado con destreza, los haces musculares aparecerán íntegros, sobre todo en sus porciones centrales, y no será difícil encontrar algunos recorridos por ondas de contracción. La observación se realizará de preferencia en los haces atravesados por ondas lentas ó conmovidos por débiles sacudidas.

Cabe asimismo practicar el estudio de la trama viviente del músculo en las fibras cortadas de través, proceder utilísimo para apreciar el valor analítico de los ácidos y de todos los agentes que revelan las redes transversales. Para ello, no hay más que capolar en menudos fragmentos un trozo de músculo todavía palpitante, á favor de un escalpelo bien afilado, y sobre el mismo porta-objetos lubrificado por una gota de plasma. Entre los pequeños trozos que se presentarán al examen, una vez cubierta (sin presión) la preparación,

hallaremos algunos situados de punta, que mostrarán elegantes reticulaciones transversales iguales á las reveladas por el oro.

Preparación por los ácidos. Estos agentes acentúan la textura preexistente en los haces vivos, al paso que hinchan la materia miósica y determinan con frecuencia la segmentación en discos. El proceder que muchos autores recomiendan es la maceración del tejido vivo por veinticuatro ó más horas en una solución de ácido clorhídrico al 1 por 1.000 ó por 500. El ácido fórmico al 1 por 100 y aun á mayor concentración (1 por 4) da iguales resultados, teniendo la ventaja de actuar más rápidamente.

Pero el proceder más elegante para demostrar la trama preexistente de las fibras estriadas es el de la impregnación áurica asociada á la acción de los ácidos. Los métodos ideados son varios: *el de Retzius* (solución de cloruro de oro al $^1/_2$ por 100, actuando sobre las fibras vivas veinticinco minutos, ácido fórmico al 1 por 100 de diez á veinte horas); *el de Ciaccio* (jugo de limón, cinco minutos, lavado, luego inmersión media hora en un soluto de cloruro de oro y de cadmio al 1 por 100, lavado, inmersión por doce horas en ácido fórmico al 1 por 100 en la oscuridad, luego otras doce á la luz, y por fin veinticuatro en la oscuridad); *el de Melland* (ácido acético quince minutos, luego cloruro de oro al 1 por 100, después ácido fórmico, etc.). Todos ellos dan buenos resultados; pero nosotros preferimos por su gran constancia el siguiente, casi idéntico al de Loewit. Trozos de músculo vivo son abandonados por cinco á diez minutos en una solución de ácido fórmico al cuarto; luego se inmergen en cloruro de oro al 1 por 100, en donde permanecen cuarenta ó sesenta minutos; y por último, se maceran en la oscuridad, de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, en ácido fórmico al tercio. Los trozos de músculo adquieren, al cabo de este tiempo, color violeta oscuro, son sumamente friables y se reducen á fragmentos transversales con la mayor facilidad, ya por simple compresión, ya por insistente capolamiento, á favor de un escalpelo bien afilado, sobre un porta-objetos. El examen debe efectuarse en agua ó alcohol con un fuerte objetivo de inmersión, sobre todo si se trata de músculos de vertebrado, cuyos elementos son mucho más finos que los de los haces de los insectos. La sustancia miósica aparecerá hinchada, incolora, con débil índice de refracción, pudiendo faltar por completo en los parajes más enérgicamente atacados por los ácidos. Sobre este fondo incoloro, en gran parte ocupado por el líquido reactivo, destaca la trama fibrilar del haz teñida en violeta. Los cortes transversales presentarán con gran limpieza las redes y los campos de Cohnheim; los longitudinales, los filamentos preexistentes y sus engrosamientos, que son las partes más enérgicamente impregnadas.

d.—*Disociación de las fibrillas.* Ya hemos visto por el texto que las fibrillas preexistentes sólo son en parte disociables por los ácidos y álcalis, y

que la acción de los coagulantes las fragmenta ó por lo menos las presta una friabilidad que imposibilita aislarlas. Pero no así las fibras-moldes, cuya separación es facilísima con ayuda de cualquier agente coagulante: el alcohol, el ácido ósmico, el ácido pícrico, crómico, bicromato de potasa, bicloruro de mercurio, etc. La simple maceración en agua común, y aun la coagulación espontánea, son condiciones que pueden determinar la disociación.

Con todo, el medio más seguro, y el que permite un estiramiento más fácil y por consiguiente la exhibición de mayor número de estrías en los moldes, es el alcohol flojo (de 33 á 50°). Los músculos frescos deberán abandonarse en este líquido por dos ó cuatro días, y serán disociados con las agujas por el procedimiento de la semidesecación. La preparación se teñirá por el carmín ó la hematoxilina y se montará en glicerina. La maceración en alcohol de 90 ó 95°, podrá también usarse ventajosamente; con ella se logra á veces la producción de grandes discos transversales comprensivos de las bandas espesas del *coagulum* (hilera de elementos sarcódicos de los autores) y aun la descomposición en elementos sarcódicos sueltos (banda ancha).

c.—*Músculos de las alas de los insectos.* El proceder del cloruro de oro ya mencionado suministra soberbias preparaciones en las que los prismas aparecen de color violeta intenso, mientras que los núcleos, las fibras-moldes, el sarcolema y las estrías delgadas permanecen incoloros. Las masas musculares doradas son especialmente aptas para reducirse, por capolamiento, á secciones transversales donde se demuestran clarísimamente las anastomosis de los prismas y la forma de los campos de Conheim. No obstante, no es posible, al menos en los haces vivos de los coleópteros, reducir las fibras ni por los ácidos ni los alcoholes á discos transversales semejantes á los de Bowman. Con todo, alguna vez se determinan en ciertos insectos (lepidópteros) bajo la influencia de la potasa al 1 ó 2 por 100.

La *disociación* de las fibras-moldes es facilísima en los músculos de las alas donde la coagulación de la miosina es, digámoslo así, sobre todo en ciertos insectos (muscidos), instantánea. Basta disociar en agua ó en plasma un trozo de músculo torácico de mosca común, para que inmediatamente aparezcan numerosas fibras-moldes perfectamente aisladas. La descomposición es menos fácil en otros insectos (hidrófilo, escarabajo, etc.), y todavía más dificultosa en los neurópteros, ortópteros, etc.; pero en todo caso se logra con sólo macerar el músculo algunas horas en agua común.

El proceder, por decirlo así, clásico de disociación, es el del alcohol al tercio. Supongamos que se trata del hidrófilo. Con unas tijeras finas se cortan las partes laterales del tórax, cuyo caparazón se levanta por su parte inferior, poniéndose al descubierto unas masas amarillentas, opacas, que se dirigen hacia la raíz de las alas. Con unas tijeras se tomará un poco de esta materia

muscular y se trasladará al alcohol al tercio, donde se abandonará por dos ó tres días. La disociación se operará con las agujas y sin más líquido que el que empapa naturalmente las fibras recién extraídas del reactivo. La maniobra ofrece algunas dificultades que la práctica sólo puede vencer; pues no se trata de un simple desprendimiento de las fibras, cosa facilísima, sino del estiramiento y adherencia de las mismas al porta-objetos, á fin de que, al sufrir la influencia de los reactivos, permanezcan fijas, y conserven todas las complicadas estrías reveladas por la distensión. Luégo, y antes que la preparación se seque (un principio de desecación es favorable), se depone en ella una ó dos gotas de una solución concentrada y bien rancia de hematoxilina de Böehmer; al cabo de algunos minutos se lava el preparado y se monta en la glicerina ó en el bálsamo. El examen con un objetivo fuerte, mostrará muchas fibras estiradas y constituídas por numerosas bandas superpuestas, unas teñidas intensamente, otras casi absolutamente incoloras (véase la fig. 138).

El proceder *de los cortes*, previa fijación al alcohol y teñido, bien en la hematoxilina, bien en las anilinas, será utilísimo, tanto en los músculos de los insectos como de los vertebrados, para darse cuenta de la forma y asociación de los haces y de la situación y número de los núcleos. El englobamiento en la parafina proporciona las más bellas preparaciones.

d.—*Fibras cardíacas*. Serán convenientes todos los procederes descritos anteriormente, con especialidad el del cloruro de oro. Sólo que, para obtener preparaciones bien demostrativas, se echará mano del corazón del carnero ó del buey y no de la rana ó del conejo, cuyas fibrillas preexistentes son excesivamente delicadas y alterables.

Para la disociación se recurrirá á la potasa al 33 ó 40 por 100. Los trozos frescos de tejido cardíaco se abandonarán por media á una hora en este reactivo, y luego se disociarán en él á beneficio de las agujas. El examen, que deberá hacerse en el líquido reactivo, mostrará los elementos cardíacos sueltos ó medio desprendidos, y revelará los núcleos sumamente pálidos y homogéneos por disolución de su cromatina.

e.—*Unión de las fibrillas estriadas y los tendones*. Los cortes de preparados fijados al alcohol ó al ácido ósmico que contengan ambos tejidos, darán ya una idea aproximada. Los músculos preferibles son los intercostales en su punto de inserción en los cartílagos.

El proceder de los ácidos y cloruro de oro es también un buen recurso, pues demuestra claramente la terminación de las fibras preexistentes por dilataciones cónicas y los núcleos del sarcolema. Weismañ ha recomendado la maceración de las fibrillas vivas en la potasa al 40 por 100 (por media á una hora).

Tienen estos procederes el inconveniente de no mostrar bien la presencia

del sarcolema entre el tendón y la materia estriada. A fin de evidenciar esta membrana y refutar la vieja opinión de que las fibrillas musculares se continúan con las tendinosas, Ranvier recomienda un medio singular que consiste en asfixiar una rana, sumergiéndola hasta que quede rígida, en agua á 55°. Examinadas las fibras en su unión con los tendones, se ve el extremo de la materia estriada fuertemente retraído, mientras que el sarcolema permanece en su sitio, fijo al haz tendinoso, al que adhiere mediante una sustancia muy tenaz. La potasa recomendada por Weissman, obra según Ranvier de la propia manera.

h.—*Fibras de Purkinje.* El animal en cuyo corazón se las halla en mejores condiciones de preparación es el carnero. Se comenzará por arrancar un trozo de endocardio, que se examinará en fresco por su cara profunda. Entre series de grandes células adiposas se presentarán cordones de grandes corpúsculos transparentes, con uno ó dos núcleos, y de protoplasma casi hialino. Una maceración de una hora en la potasa al 40 por 100, aisla fácilmente estas células. En su capa periférica, formada de sustancia estriada, revelan los ácidos algunas fibrillas preexistentes en haces entrecruzados y vagamente moniliformes. Los coagulantes producen en los intersticios de éstas, fibras miósicas con las dos bandas características.

CAPÍTULO XIV

TEJIDO NERVIOSO

1.—**Defin.** Es un tejido de origen ectodérmico, compuesto de corpúsculos muy diferenciados, de forma estelar, provistos de expansiones larguísimas, una de las que tiene por objeto ponerlos en relación dinámica bien con elementos de igual naturaleza, bien con las células de los tejidos subordinados (fibras musculares, células epiteliales, etc.).

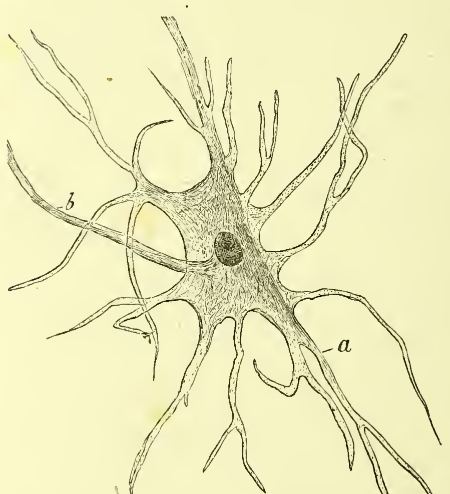


Fig. 144.—Célula nerviosa del asta anterior de la médula del buey.—Disociación por el bicromato de potasa diluído.—Coloración al carmín: *a*, expansión protoplasmática; *b*, filamento de Deiters.

2.—**Div.** Consta este tejido de tres elementos fundamentales: las *células nerviosas,* los *corpúsculos neuróglicos* y las *fibras conductrices*. De la asociación y entrecruzamiento de estas tres partes se constituyen los órganos nerviosos, aunque los hay también donde sólo concurren la neuroglia y las fibras (sustancia blanca central), y otros exclusivamente formados de fibras (nervios).

Las fibras nerviosas, no son en realidad elementos independientes, sino simples expansiones del protoplasma de las células centrales. Las más cortas de tales prolongaciones se describen con éstas, como partes accesorias

del cuerpo celular; pero las más largas ofrecen disposición tan complicada y caracteres tan especiales, que los autores han convenido en estudiarlas aparte, como si se tratara de verdaderas individualidades celulares.

a.—**Célula nerviosa.** Las células nerviosas son unos corpúsculos grisáceos, amarillentos, de aspecto turbio, de cuya asociación se forma gran parte de la sustancia gris de los centros, así como los ganglios. Su *talla* es gigante comparada con la de los demás elementos, bien que ofrece multitud de variaciones según la región y el órgano en que habita. Las mayores, que alcanzan un diámetro de 60 á 100 μ (sin contar las prolongaciones), residen en las astas anteriores de la médula, y las más pequeñas, con un diámetro de 6 á 7 μ, constituyen la capa granulosa del cerebelo. Como intermediarias en tamaño, pueden estimarse las más gruesas del cuerpo de Ammon y circunvoluciones cerebrales, cuya estatura oscila entre 25 y 35 μ.

La *forma* de las células nerviosas es generalmente estrellada, merced á las numerosas prolongaciones que presentan; pero si prescindimos de éstas, notaremos que existen corpúsculos de cuerpo esférico, piramidal, cónico, fusiforme, etc. Los esféricos habitan de preferencia en los ganglios y en la parte profunda de la sustancia gris cortical del cerebro y cerebelo; los piramidales en las zonas medias y superficiales de esta misma sustancia; los fusiformes en el asta posterior de la médula, etc. En fin, cada localidad nerviosa puede decirse que posee un tipo celular especial, aunque esta regla tiene muchas excepciones. Lo que caracteriza más especialmente la forma de las células nerviosas, es la presencia de expansiones. No faltan jamás en ningún corpúsculo nervioso íntegro; las células *apolares* ó sin expansiones, descritas por ciertos autores, son pura ilusión debida á insuficiencias técnicas. El número de las expansiones es sumamente variable: hay células *bipolares* ó *diclonas*, es decir, provistas de dos prolongaciones que nacen de ordinario de puntos opuestos del protoplasma, pero son todavía más comunes las células *multiclonas* ó *multipolares*. La existencia de células *unipolares* indicada por muchos, nos parece dudosa y pudiera depender de los traumatismos que, en las expansiones celulares, causa la disociación mecánica.

A ejemplo de Golgi, dividiremos las expansiones en *protoplasmáticas* y *nerviosas*. Las protoplasmáticas son numerosas, arrancan por lo común de distintos puntos del cuerpo celular, se ramifican con frecuencia y disminuyen rápidamente en espesor hasta terminar en punta. No es posible comprobar anastomosis entre estas expansiones, ni entre ellas y las procedentes de células distintas, circunstancia que ponen de manifiesto con notabilísima claridad las preparaciones de los centros nerviosos impregnados por el método de Golgi.

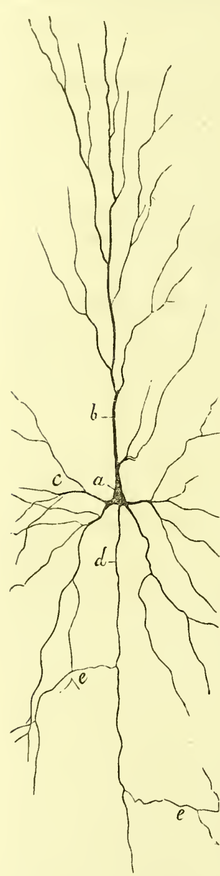


FIG. 145. — Célula piramidal superficial de la circunvolución frontal ascendente del mono (cercopiteco) teñida por el proceder de Golgi: *a*, cuerpo de la célula; *b*, rama protoplasmática dirigida hacia la superficie cerebral; *c*, ramas laterales; *d*, filamento nervioso; *e*, sus ramificaciones.

La prolongación nerviosa llamada también *cilindro-eje* ó *filamento de Deiters*, es única en cada fibra y se distingue de las protoplasmáticas en que es más lisa y delicada, en que comienza por un abultamiento cónico bastante prolongado, y, sobre todo, en que conserva su grueso, durante largo trayecto, sin descomponerse ni perder su individualidad. Examinada esta fibra en las células más gruesas, se muestra claramente fibrilar, á diferencia de las demás expansiones que aparecen un tanto granulosas.

Para muchos histólogos (Deiters, Meinert, etc.), la prolongación nerviosa no se ramifica, continuándose directamente con un tubo nervioso; pero Golgi ha demostrado, y nosotros hemos tenido ocasión de confirmar muchas veces (v. la fig. 145), que esto no es cierto, pues aquélla emite de un modo constante y en ángulo casi recto varias ramitas secundarias, susceptibles, después de un trayecto flexuoso más ó menos largo, de descomponerse en otras todavía más finas. Bajo el punto de vista de la ramificación que presentan, cabe distinguir las prolongaciones nerviosas en dos órde-

nes: 1.ª, unas que, á pesar de sus numerosas ramificaciones, conservan su individualidad y su diámetro, alcanzando la sustancia blanca donde se continúan con un cilindro-eje, y 2.ª, otras que se agotan tras repetidas ramificaciones, viniendo á parar á un plexo de filamentos delicados donde no es posible seguirlas. Las prolongaciones nerviosas de la primera categoría corresponden casi siempre á células de gran talla (células de las astas anteriores de la médula, células de Purkinje del cerebelo, células piramidales del cerebro, etc.), probablemente de categoría motriz; mientras que las expansiones de la segunda especie nacen de células pequeñas (astas posteriores de la médula, células de la fascia dentada del asta de Ammon, células más profundas de las circunvoluciones cerebrales y cerebelosas) verosímilmente de naturaleza sensitiva.

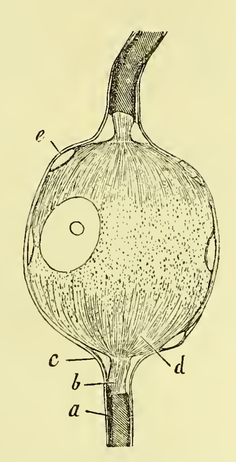


Fig. 146.—Célula nerviosa de un ganglio espinal de la raya.—Examen en fresco: *a*, mielina del tubo nervioso; *b*, cilindro-eje fibrilar; *c*, capa conjuntiva adventicia continuada con la membrana celular; *e*, núcleos de la membrana; *d*, fibrillas divergentes del protoplasma.

Estructura. El protoplasma de las células nerviosas más voluminosas, presenta un retículo de fibrillas delicadas, brillantes, como granulosas, que se entrecruzan estrechamente alrededor del núcleo, y se condensan en la periferia para continuarse con las expansiones y especialmente con la de Deiters. Este retículo está sumergido en el seno de una materia transparente que contiene finas granulaciones en suspensión. No es fácil decidir si los hilos de este armazón se anastomosan ó no en el cuerpo de la célula; el examen de las células motrices de la médula, así como el de los grandes corpúsculos del cerebro y cerebelo aislados por disociación mecánica, no permiten una percepción bien correcta de la forma del armazón. En cambio las células de los ganglios ofrecen más facilidades, exhibiendo con singular claridad (previa fijación al ácido ósmico, y coloración á la hematoxilina), un esqueleto reticulado de mallas estrechas y poligonales.

En las células bipolares gangliónicas de los peces (fig. 146), es

muy fácil distinguir el armazón aun en estado fresco; está constituído por fibras aisladas, refringentes, casi rectilíneas, que, partiendo de la proximidad del ecuador, convergen hacia los polos, condensándose en haz y continuándose con los cilindros-ejes. Ciertos autores han afirmado (Ranvier) la continuidad de las fibras de un polo con las del opuesto; esto es lo que aparece á un examen superficial; mas si se observa atentamente con un fuerte objetivo la zona ecuatorial del corpúsculo, se nota que las hebrillas se pierden en una masa finamente granulosa, probablemente construída de un retículo extremadamente fino y cerrado. De todos modos, dista mucho de estar resuelta la cuestión de la textura del protoplasma nervioso, debiendo considerarse como esquemas hipotéticos las descripciones de Schultze, Beale y Arnold.

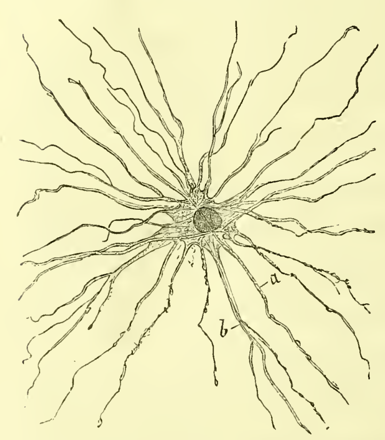


Fig. 147.—Célula neuróglica de la sustancia blanca medular del buey.—Disociación previa maceración en bicromato diluído (1 por 200): *a*, una expansión celular continuada con una cresta protoplasmática; *b*, una expansión ramificada.

Además del jugo celular, las mallas del retículo de ciertas células nerviosas contienen granos redondos de un pigmento amarillo ó moreno, al que se debe el color gris de la sustancia de los centros. Este pigmento constituye ordinariamente una masa ó acumulo periférico claramente separado del resto del cuerpo celular.

El *núcleo* de la célula nerviosa es voluminoso (de 5 á 12 μ) comparado con el de otros elementos, pero pequeño con relación á la masa protoplasmática que le rodea; posee forma esférica ú ovoidea, rara vez triangular; casi siempre ocupa en el cuerpo celular una posición excéntrica, y consta de una membrana acromática muy perceptible, un jugo nuclear rico en granulaciones en las células muertas, pero perfectamente diáfano y homogéneo en las frescas, y un nucleolo voluminoso, esférico, brillante, perfectamente homogéneo y especialmente ávido por el carmín, el verde metileno, la

hematoxilina, etc. Quizás este grano representa la verdadera cromatina nuclear dispuesta en bloque homogéneo, en lugar de la forma en red tan frecuente en las células ordinarias.

La *membrana* celular falta en las células nerviosas cerebro-raquídeas, ó caso de existir debe ser de una delicadeza extrema, pues los mejores objetivos no bastan á resolverla; en cambio se la halla singularmente desenvuelta en los elementos gangliónicos, donde reviste la forma de una gruesa cápsula de sustancia fibrilar sembrada de numerosos núcleos aplastados. Más adelante veremos que esta cubierta representa, más que una envoltura celular, un aparato adventicio protector sumamente complicado.

b.—**Células neuróglicas**. Cuando se disocia la sustancia blanca de los centros nerviosos en una solución de bicromato potásico, encuéntranse al lado de fibras y células nerviosas unos elementos especiales, de cuerpo pequeño (6 á 8 μ) é irregular, del cual parten finísimas y numerosas prolongaciones divergentes (fig. 147). Estas prolongaciones comienzan por eminencias cónicas y granulosas que se dicotomizan inmediatamente, reduciéndose á hilos brillantes de espesor casi uniforme y salpicados de gránulos refringentes superpuestos. El curso de estos hilos es flexuoso, y cuando se los observa en los cortes de la sustancia blanca, se ve que ocupan los intersticios de los tubos y capilares, moldeándose á su forma y entrecruzándose con los procedentes de corpúsculos vecinos. En los elementos disociados y teñidos por el carmín, es bastante frecuente ver que los hilos proceden de los extremos de una cresta de impresión del protoplasma. Cuando esta cresta sobresale mucho y se examina de frente, aparenta ser una fibra independiente, es decir, no continuada con el protoplasma, al que estaría simplemente adherida (fig. 147, *a*). Esta disposición ha hecho decir á Ranvier que los filamentos son independientes de las células, y que éstas vienen á ser tan sólo corpúsculos conectivos de forma laminar, situados en los puntos de convergencia de aquéllos. En ocasiones, según este autor, la relación sería todavía más íntima, pues que los hilos podrían atravesar el protoplasma y continuarse con los de los elementos circunvecinos. Pero el método de nitratación de Golgi, que tiñe de café rojizo los corpúsculos neuróglicos, haciéndolos resaltar con desusada claridad, no abona esta opinión, puesto que revela

los filamentos, no sólo continuos con las células, sino perfectamente limitados en sus extremos periféricos.

No todas las partes de los centros nerviosos poseen células neuróglicas: faltan en casi toda la sustancia gris de las circunvoluciones, exceptuando la capa submeníngea, pero abundan sobremanera en la sustancia blanca del cerebro y de la médula, donde constituyen grandes acumulos. Muchas de ellas se aplican á los vasos, á los que siguen á cierta distancia dentro de la sustancia gris, formándoles una especie de maleza de revestimiento.

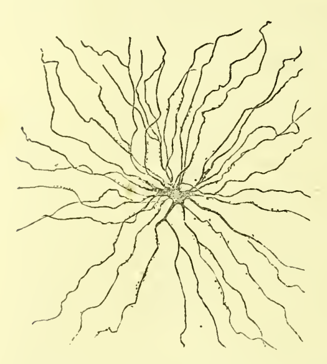


Fig. 148. — Célula de neuroglia de la sustancia blanca de la médula; impregnación argéntica por el proceder de Golgi.

La *forma* y *dimensión* de las células neuróglicas varía en los diversos departamentos de los centros nerviosos, como más adelante tendremos ocasión de observar. En general, puede decirse que se moldean siempre á la configuración de los espacios que quedan entre los corpúsculos y fibras nerviosas, entrelazándose estrechamente y formando una ganga de sostén sumamente tupida.

La *estructura* de los elementos que estudiamos es muy análoga á la de las células nerviosas; carecen de membrana separable; su protoplasma, poco abundante, es correctamente fibrilar y como reticulado; sus expansiones periféricas parecen simple continuación de los hilos del armazón; el núcleo, que ocupa gran parte del cuerpo celular, posee una membrana y red cromática, y no es raro verlo deformado con crestas ó eminencias de impresión.

Entre las células neuróglicas no existe ninguna materia conjuntiva ni reticulada; ellas son las que prestan la apariencia de rejilla ó de esponja á la sustancia que separa los corpúsculos nerviosos: añadamos aún, que gran parte de esa trama, que Gerlach, Kölliker, etc., suponían ser de naturaleza neuróglica, está constituída también por las ramificaciones protoplasmáticas de las células nerviosas, así como por las fibrillas emanadas de los filamentos de Deiters.

c.—**Tubos nerviosos.** Así se llama el trayecto extracentral de las prolongaciones de Deiters de los corpúsculos nerviosos.

Divídense los tubos nerviosos en *fibras medulares* y en *fibras amedulares* ó *de Remack.* Las medulares se llaman así por ofrecer una cubierta de mielina, especie de barniz grasiento aislador de la corriente nerviosa; y las de Remack ó amedulares son las que carecen de envoltura grasienta, conservando en todo su trayecto su disposición originaria de cilindro-eje. Las primeras se han calificado también con la designación de *fibras de la vida de relación,* porque proceden directamente de los centros encéfalo-raquídeos, y las segundas han merecido el nombre de *fibras de la vida orgánica,* por hallarse particularmente localizadas en los nervios del gran simpático.

1.—*Fibras nerviosas medulares.* Estas fibras son verdaderos tubos de composición anatómica compleja, que se distinguen fácilmente al microscopio por la oscuridad de sus bordes y la presencia de un doble contorno. Habitan estos elementos en los cordones nerviosos, de los que forman la parte principal, constituyendo también, con algunas ligeras variantes de textura, la sustancia blanca de los centros.

La *forma* de los tubos, examinados en estado de moderada distensión, es cilíndrica con bordes rectilíneos: en relajación, aparecen más gruesos y limitados por numerosas arrugas y gibas que les prestan aspecto de intestino. En las preparaciones fijadas al ácido ósmico, es frecuente encontrarlos un tanto deformados por presión recíproca.

El *espesor* de los tubos es sumamente variable; los más gruesos alcanzan de 8 á 10 μ, en

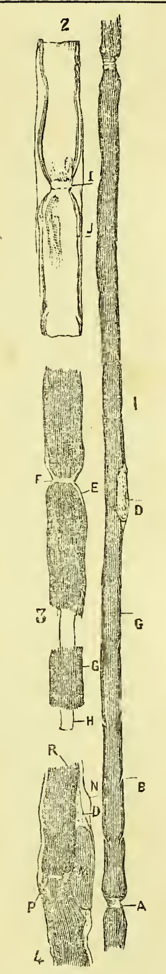


FIG. 149.—1, fibra osmicada examinada á débil aumento para demostrar el intervalo entre dos estrangulaciones: A, estrangulación; D, núcleo; B, cisuras de Lantermann; 2, estrangulación vista en una fibra viva; 3, detalles de una estrangulación fijada por el osmio; 4, detalles del núcleo y del protoplasma que le envuelve D.

tanto que los delgados pueden no pasar de 2. Entre estos dos extremos existen todas las dimensiones intermedias. El diámetro es sensiblemente uniforme en cada tubo, excepto en ciertos parajes en que súbitamente disminuye en una mitad ó más, constituyendo unos estrechamientos llamados *estrangulaciones de Ranvier*. Repítense estos cuellos ó angosturas de trecho en trecho y á distancias regulares de 1 á 2 milímetros para los tubos gruesos y de $1/2$ á 1 para los delgados (rana). El trozo de tubo comprendido entre dos estrangulaciones se llama *segmento interanular* (fig. 149).

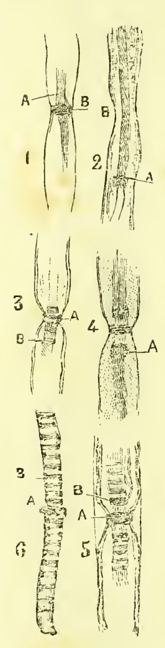


FIG. 150.—Detalles de los tubos nerviosos tratados en fresco por el nitrato de plata.—1, una estrangulación ordinaria con su disco de soldadura B; 2, fibra con el cilindro y el disco dislocados; 3 y 4, fibras con discos accesorios; 5 y 6, estrías de Fromann.

La estructura del tubo nervioso es bastante compleja: en ella se comprenden tres partes principales: *la membrana de Schwan, la mielina* y *el cilindro-eje*.

a.—*Membrana de Schwan*. Es una cubierta finísima, hialina, eminentemente elástica, que se moldea exactamente á la forma de la mielina. Su extrema delgadez no consiente distinguirla directamente en los tubos íntegros, pero se la discierne cuando la mielina ha sido extraída de éstos, bien por presión, bien por la acción de sus disolventes. En todo caso, la capa de Schwan se observa bastante claramente en la proximidad de las estrangulaciones de Ranvier, donde se halla, sobre todo en las fibras tratadas por el ácido ósmico, algo apartada de la mielina. La membrana de Schwan se comporta ante los reactivos como una membrana celular, resiste á los ácidos diluídos, no se disuelve en la potasa, ni se tiñe por ninguna clase de materias colorantes.

Como una parte accesoria de la membrana de Schwan, debemos citar los *núcleos nerviosos:* éstos son corpúsculos alargados, convexos por dentro y albergados en una foseta de la mielina, y de configuración cilindroide hacia fuera, por donde adhieren íntimamente á la membrana de Schwan. En el intervalo que

media entre dos estrangulaciones sólo se halla un núcleo, el cual ocupa la parte central del segmento interanular. En torno del núcleo, pero sobre todo en sus extremos, existe un acumulo de protoplasma finamente granuloso, que se extiende por entre la mielina y la vaina de Schwan á una distancia que no es fácil precisar. La adherencia de este protoplasma á la membrana de Schwan es perfecta, diríase que se continúa sustancialmente con ella, mientras que los vínculos que lo mantienen unido á la mielina son flojos, despegándose de ésta con la mayor facilidad. Es imposible confirmar lo que ciertos autores afirman, á saber: que la capa de protoplasma envuelve por completo los segmentos de mielina, formándoles un forro interior y otro exterior.

b.—*Mielina.* Es una sustancia albúmino-grasienta, sumamente refringente, semilíquida, que constituye una cubierta gruesa alrededor del cilindro-eje. Observada la mielina en las fibras vivas, aparece como un doble contorno grisáceo, á veces ligeramente verdoso, rigurosamente marcado. El centro del tubo que los rayos luminosos atraviesan casi de un modo normal, se presenta claro y brillante, lo que depende también de la presencia del cilindro-eje, cuya materia de construcción es muy pálida y vagamente contorneada.

En los tubos nerviosos vivos y moderadamente distendidos, la capa de mielina es homogénea y sus bordes correctos: mas tan pronto como cesa la excitabilidad de aquéllos, la mielina se coagula disponiéndose en grumos que afectan las más extrañas formas, tales como hilos, redes, anillos, esferas más ó menos regulares, etc. La varia configuración de estos depósitos, así como su acumulo desigual, dan al tubo nervioso aspecto tortuoso y moniliforme.

El ácido ósmico aplicado sobre las fibras vivas fija la mielina en masa homogénea de color negro pardo. Si el ácido ósmico ha obrado poco tiempo ó su concentración no es suficiente, la mielina no se prende en masa homogénea, exhibiendo vacuolas transversales y convergentes al *cilinder*, que prestan al tubo, cuando se afoca por sus bordes, aspecto estriado. En ocasiones, el ácido descompone la mielina en bastoncitos perfectamente limitados, que aparecen en los cortes transversales como radios curvos entrecruzados

(fig. 151, d). Estas disposiciones son artificiales, como lo son también las redes que la mielina presenta tras larga maceración de los tubos nerviosos vivos en el alcohol, cloroformo, éter, liquidos digestivos artificiales, etc.

Discos de soldadura. La mielina está interrumpida transversalmente al nivel de la estrangulación de Ranvier por un disco homogéneo, de naturaleza proteica, que cierra el intervalo que existe entre el cilindro-eje y la membrana de Schwan. Cuando se tratan las fibras nerviosas medulares frescas por el nitrato de plata, aparecen (previa reducción á la luz) ciertas cruces negras (cruces de Ranvier) situadas al nivel de las estrangulaciones (fig. 150). La raya transversal de la cruz es el disco de soldadura, y la vertical corresponde al *cilinder axis.* Esta raya vertical, que de ordinario está menos acusada que la transversal, se desvanece suavemente hacia las zonas centrales del segmento interanular (fig. 150). Cuando en una preparación nitratada se disocian los tubos nerviosos, no es raro ver algunos en que el cilindro-eje se ha desprendido de su yacimiento, dejando en su lugar ó llevándose consigo el disco de soldadura. En el primer caso, el *cilinder* se muestra algo engruesado y negruzco, en el punto en que estaba enclavado en el espesor del disco *(espesamiento bicónico de Ranvier);* y en el segundo, la membrana de Schwan conserva su estrangulación, presentándose continua y ligeramente teñida en pardo por los restos del disco dislocado. Este último hecho es muy importante, pues da gran verosimilitud á la opinión de que el disco transversal no es un cemento de unión, ni una materia intercelular como muchos autores afirman, sino una placa de apoyo del *cilinder* adherida á la superficie interna de la vaina de Schwan.

Cisuras de Lantermann. El ácido ósmico revela, además de las gruesas interrupciones al nivel de los discos de soldadura, otras más pequeñas y numerosas que fragmentan el segmento interanular en numerosos anillos ó pedazos de cilindro superpuestos (fig. 149). Las cisuras separatorias son circulares y completas; su dirección es oblicua con relación á la del tubo nervioso; y en su interior, albergan una materia granulosa pálida susceptible de teñirse en ciertas circunstancias por el nitrato de plata, lo que le presta el carácter de un cemento de separación análogo al disco de soldadura. Sólo

que á diferencia de éste, la materia de las cisuras no llega por dentro hasta el *cilinder*, ni por fuera hasta la membrana de Schwan, limitándose no más á los extremos de los segmentos mielínicos. Por virtud de la oblicuidad de las cisuras, los trozos de mielina aparecen imbricados (fig. 149, B). A veces el bisel se complica, adquiriendo la sección de la cisura una figura de V. Por lo demás, existen grandes variedades, tanto en lo que se refiere á la forma y dirección de las cisuras, como en lo que respecta á la extensión de los segmentos mielínicos.

Vaina de Mauthner. En torno del cilindro-eje y por debajo de la mielina, existe una capa de una materia transparente probablemente líquida, en la cual producen los reactivos precipitaciones albuminoides. Esta capa ha sido estimada por Ranvier, como una derivación del protoplasma que envuelve el núcleo del segmento interanular, opinión que no puede aceptarse porque dicha capa examinada en vivo ó en los cortes transversales de las fibras osmicadas, no presenta nunca ni el aspecto granuloso, ni las afinidades tintóreas del protoplasma. Así es que conceptuamos mucho más probable el parecer de Schieffedecker que la estima como un plasma de nutrición del *cilinder*, en comunicación con el exterior á través de las cisuras de Lantermann y discos de soldadura (véase la fig. 151).



Fig. 151.—Corte transversal de un trozo de fascículo nervioso del nervio ciático del conejo indiano. —Impregnación por el ácido ósmico: *a*, vaina laminosa ó perineuro; *b*, mielina; *c*, cilindro-eje, *d*, mielina de aspecto fibrilar; *e*, sección de un tubo junto al disco de soldadura (el cilindro-eje se presenta más oscuro y la mielina más gruesa y desigual de contorno); *f*, sección de una cisura de Lantermann: la estría negra concéntrica representa la mielina del segmento biselado hacia fuera; *g*, célula conjuntiva; *h*, fascículos conectivos intersticiales.

c.—*Cilindro-eje*. Así se llama á la expansión celular nerviosa que ocupa el centro del tubo formado por la reunión de los segmentos interanulares. La *forma* del *cilinder* es la de un cordón más ó menos aplanado y perfectamente liso de superficie. Su *consistencia* es semilíquida, como lo da á entender su fácil deformación por las más débiles presiones, por ejemplo: la

que ejercen sobre él los grumos de mielina coagulada. Así que sólo en las preparaciones fijadas al ácido ósmico, es dable encontrar el *cilinder* sin deformaciones. La materia del cilindro es pálida, casi homogénea en estado fresco, poco refringente, susceptible de colorarse por el carmín, las anilinas y la hematoxilina. Aplicada esta última materia tintórea por el proceder de Veigert (véase más adelante el modo de preparación del tejido nervioso), presta al cilindro color pardo oscuro, mientras que la mielina se impregna de violeta intenso.

Examinado el cilindro-eje, ya en estado fresco, ya en los preparados teñidos al carmín, hematoxilina, etc., se presenta correctamente estriado á lo largo como si estuviera compuesto de fibrillas. Estas estrías, que son finísimas, parecen alternar con series de gránulos. La apariencia estriada es sobre todo perceptible en la prolongación de Deiters de las grandes células motrices de la médula, en los tubos que arrancan de las células bipolares gangliónicas de los peces, y en los gruesos *cilindros* emanados de los corpúsculos nerviosos del torpedo (lóbulo eléctrico).

La textura fibrilar se manifiesta todavía más claramente en las terminaciones nerviosas (por ejemplo, en las de la córnea), donde se ve un *cilinder* ramificarse sucesivamente hasta reducirse á filamentos tan tenues como las estrías que se vislumbran en los cilindros gruesos.

Estrías de Frommann. Ocurre con frecuencia que los cilindros-ejes de los tubos sometidos á la acción del nitrato de plata, presentan rayas ó anillos negros alternos con bandas incoloras ó ligeramente amarillentas. Todas las zonas del *cilinder* son capaces de estriarse de este modo; pero á menos que éste no se ponga precisamente al descubierto por disociación mecánica, la única zona que aparece teñida es la próxima al disco de soldadura, desvaneciéndose suavemente el color hacia las regiones centrales del segmento interanular. Las estrías son superficiales, constituyendo verdaderos anillos granulosos, tanto más oscuros, estrechos y apretados cuanto más próximos se hallan al disco de soldadura. Con frecuencia, á corta distancia de éste se halla una raya más ancha y negra que las demás, á cuyo nivel el *cilinder* está bastante engruesado, simulando casi un disco de soldadura *(disco complementario)* (fig. 150, 4, A).

No es cosa fácil la interpretación de las estrías de Frommann. Ningún otro reactivo las revela, y por otra parte, su situación y dimensiones ofrecen muchísimas variantes, por lo que cabe dudar de su preexistencia en la fibra viviente. Ciertos autores las suponen constituídas por precipitaciones de la vaina de Mauthner, que reducirían el nitrato de plata y se depositarían sobre el *cilinder*, lo que explicaría por qué este filamento aparece algo engruesado al nivel de las rayas negras, así como en el paraje llamado ensanchamiento bicónico. No obstante, esta hipótesis no da razón de la forma anular alternante de las precipitaciones, ni de la existencia cerca del disco de soldadura de una ó varias zonas más gruesas.

Sobre la significación de la envoltura de mielina, así como respecto de la naturaleza de otras diversas partes del tubo nervioso (cisuras de Lantermann, vaina de Mauthner, etc.), existe gran diversidad de pareceres. Ranvier (*Leçons sur l' histologie du système nerveux*, 1878) supone que cada segmento interanular es la representación de una célula grasienta, enormemente alargada y atravesada por un cilindro-eje. En esta hipótesis, la vaina de Schwan, los núcleos de esta membrana, la sustancia granulosa que rodea al núcleo pareciendo prolongarse por las cisuras de Lantermann, y los cilindros imbricados de mielina, significan sucesivamente la cubierta, el núcleo, el protoplasma y las gotas de grasa de un corpúsculo adiposo. El disco transversal ennegrecible por la plata, sería el cemento de unión de dos elementos sucesivos: en este punto vendrían á terminar los extremos interrumpidos de la membrana de Schwan.

Boberi (*Beiträge zur Kenntniss der Nervenfasern*. Abh. d. math-phys. Cl. d. K. Bayerischen Akad. d. Wiss. Bd. H. 1885.) extrema todavía más la opinión de Ranvier, considerando que la membrana de Schwan no cesa al nivel de la estrangulación, sino que se dobla hacia adentro para constituir un revestimiento interior á la mielina; por manera que el *cilinder* no atravesaría el contenido de la célula grasienta, sino que sería simplemente envainado por ésta.

Estas opiniones descansan sobre el hecho no probado, como hemos tenido ocasión de exponer anteriormente, de la interrupción de la membrana de Schwan al nivel del disco de soldadura. La observación atenta de este disco, tanto en las preparaciones nitratadas como en las osmicadas, demuestra que no es un cemento *inter*, sino *intracelular*, puesto que está situado por debajo de la membrana de Schwan. Así que en vez de disco de soldadura, sería más lógico denominarlo disco de sostén, pues su oficio parece ser muy principalmente mantener al *cilinder* en su posición axial dentro del tubo aislador de

mielina. Schieffedecker *(Beiträge zur Kenntniss des Baus der Nervenfasern*, Arch. für Mik. Anat. Bd. 30. 3 Heft, 1887) afirma también la no interrupción de la vaina de Schwan, fundándose en los efectos que sobre las fibras produce el proceder de Kuhnt (maceración de los tubos osmicados por dos ó más días en amoníaco diluído). El amoníaco destruye todas las partes del tubo excepto la membrana de Schwan, que se muestra incólume y continua. Aparte de que ni la potasa, ni el alcohol al tercio, ni la misma disociación mecánica, son susceptibles de despegar los segmentos interanulares al nivel de los discos mal llamados de soldadura.

Otro de los hechos desfavorables á la hipótesis de Ranvier es que los núcleos no pertenecen á la mielina, sino á la vaina de Schwan, como parece indicarlo el hecho de que, en la sustancia blanca de los centros nerviosos, donde la mielina carece de vaina de Schwan, no existen núcleos. Aquí la mielina no puede considerarse como contenido de ningún protoplasma, sino más bien como un producto de secreción del cilindro-eje, á menos que no se prefiera, de lo que no tenemos prueba alguna, atribuir esta producción á los elementos neuróglicos inmediatos. La opinión de que los núcleos pertenecen á la membrana de Schwan y no á la mielina la sostienen especialmente Key y Retzius *(Studien in der Anatomie der Nervensystems, und des Bindegewebes*, 1875 á 1876) y Schieffedecker (loc. cit.)

Cuanto á la significación de las cisuras de Lantermann, las opiniones distan mucho de armonizarse. Ranvier las estima como puentes de protoplasma destinados á poner en comunicación el que rodea á la mielina con el que según él envuelve al *cilinder* (vaina de Mauthner), Koch ha demostrado *(Uber die Marcksegmente der doppeltcontourirten Nervenfasern*, Centralbl. d. med. Wiss., 1876, núm. 49) con ayuda del nitrato de plata usado de un modo especial, que la materia de dichas cisuras se tiñe en negro como los cementos, y que por tanto representan también un verdadero disco de soldadura. Este cemento tendría la forma de un embudo que se fijaría por sus extremos al cilindro y á la membrana de Schwan. Kuhnt participa casi de las mismas ideas *(Die peripherische markhaltige Nervenfasern*, Arch. f. mik. Anat. Vol XIII, 1877), y Schieffecdecker considera también estas cisuras como embudos de cemento, pero no prolongados hasta el cilindro, sino limitados á los extremos de los anillos mielínicos.

Por último, en el seno de estos embudos, Rezzonico *(Sulla struttura delle fibre nervose del midollo spinale*, Arch. per le scienze med. 1879, y Golgi. *Sulla struttura delle fibre nervose midollate periferiche e centrali*, Archi. per le scienze med. 1885), han descrito un filamento espiral sumamente fino, colorable al nitrato de plata por el proceder de Golgi un tanto modificado (véase la técnica).

Por fuera de la membrana de Schwan, hay ciertos autores (Abreu. *Histologie do tubo nervoso*, etc., 1885. Schiecffedecker, loc. cit.) que señalan la existencia de una nueva cubierta, especialmente perceptible al nivel de las estrangulaciones. Esta cubierta, que Schiecffedecker titula vaina de la fibrilla (fibrillenscheide), nos parece resultado de una ilusión: entre los tubos nerviosos y adheridos á su superficie, existen numerosos fascículos conectivos finos, hialinos y extremadamente pálidos, que, al nivel de las estrangulaciones, saltan de un segmento al subsiguiente, marchando en línea recta, y simulando perfectamente, cuando su posición es lateral, la sección óptica de una membrana. La disociación mecánica desvanece el error, demostrando que son hebras ó fascículos conectivos, á veces ramificados, que se apartan de unos tubos para adherirse á otros, llevando una marcha casi siempre longitudinal. Los cortes transversales tampoco revelan dicha membrana, sino las secciones de los hilos mencionados que pueden acumularse más ó menos en torno de los tubos, pero sin constituir nunca capa continua.

Respecto del cilindro-eje, los pareceres andan más acordes. Casi todos los autores admiten en él una textura fibrilar y una cubierta envolvente. Para algunos (Boll, Kuhnt, Todaro, etc.), esta cubierta está bien limitada; para otros, se trata de simple capa cortical sumamente blanda y alterable. En torno del *cilinder* se admite generalmente la existencia de un líquido de nutrición constituyente de la vaina de Mauthner *(líquido periaxial* de Klebs).

Recientemente, Leidig *(Zelle and Gewebe,* Bonn, 1885) niega la textura fibrilar del *cilinder,* considerándole como compuesto de dos partes: una red apretada, esponjosa, cuyas nudosidades están en una misma dirección, por lo cual aparentan ser fibras *(Spongioplasma);* y una materia homogénea que llena las mallas de la red. Nansen *(Die Nervenelemente, ihre Struktur und Verbindung in Centralsystem.* Anat. Anzeiger, 1888) supone que el *cilinder* resulta de la asociación de muchos conductitos paralelos de espongioplasma que contienen una materia líquida.

2.—**Fibras de Remack.** Mezcladas con las medulares, se encuentran también en los nervios encéfalo-raquídeos, pero sobre todo en las ramas del gran simpático, unas fibras lisas, pálidas, desprovistas de mielina y reducidas casi á la condición de simples cilindros-ejes. Estas fibras, llamadas *lisas, de Remack, amedulares, simpáticas* ó *de la vida orgánica,* se distinguen fácilmente de las medulares por la ausencia del doble contorno oscuro, y la carencia de estrangulaciones.

La *forma* de las fibras de Remack es cilindroidea más ó menos aplastada, aunque también puede ser prismática. Su *diámetro* oscila

entre 1,20 y 3 μ (ciático de la rana), su *dirección* es ordinariamente rectilínea, y lisos y derechos sus contornos.

El *contenido* de las fibras de Remack es pálido, granuloso y finamente fibrilar, como el cilindro-eje de los tubos mielínicos. En los bordes de las mismas se observa, á favor de fuertes objetivos, un doble contorno, formado por una película hialina, susceptible de enmorenecerse un tanto por el ácido ósmico, y de resistir á la acción de los ácidos y álcalis.

Las fibras de Remack presentan, de trecho en trecho y de un modo constante, *núcleos* superpuestos á la sustancia fibrilar, cuyo grosor aumentan, prestando á las fibras aspecto arrosariado. Estos corpúsculos son elipsoides, de 20 á 30 μ de largo por 3 á 5 de grueso y están compuestos de una membrana anhista y de un contenido cromático, reticulado y sin nucleolos. Examinando atentamente los extremos del núcleo, se nota que se prolongan en una masa finamente granulosa, continuada probablemente con la cubierta de la fibra. Semejante continuidad recuerda la independencia que, respecto del *cilinder,* tienen en los tubos medulares la membrana de Schwan y los núcleos.

Las fibras de Remack se asocian en haces, adhiriéndose unas á otras con bastante tenacidad, circunstancia que explica el aspecto reticulado ó anastomosado que ofrecen en los manojos incompletamente disociados.

En suma: las fibras de Remack son cilindros-ejes ordinarios revestidos directamente, es decir, sin intermedio de mielina por una especie de vaina de Schwan guarnecida de núcleos. Representan bajo el punto de vista morfológico las fibras medulares embrionarias, y son análogas á los tubos nerviosos de los invertebrados.

d. — **Asociación de las fibras en nervios.** Los filamentos de Deiters de uno ó varios grupos de células medulares se asocian en haz, constituyendo primero las raíces y luego los cordones periféricos. Durante su tránsito por la sustancia gris, el *cilinder* está desnudo; pero al llegar á la sustancia blanca se envuelve en una capa mielínica, donde se notan ya las cisuras de Lantermann. La membrana de Schwan, los núcleos y las estrangulaciones, sólo aparecen en el momento en que la fibra emerge de la sustancia blanca para constituir un tubo nervioso. Por lo demás, las estrías de From-

mann y los discos de soldadura son ya visibles en el trayecto cortical de las raíces.

El nervio, una vez emergido, queda envuelto en una túnica conjuntiva, espesa, rica en vasos sanguíneos, que es simple continuación de la pía-mater *(neurilema)*. De la superficie interior del neurilema parten tabiques gruesos que albergan con frecuencia células adiposas, segmentando el nervio en fascículos.

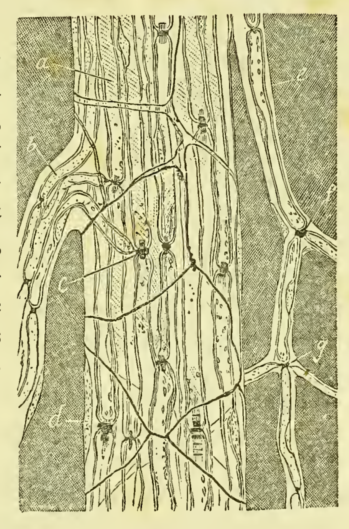


Fig. 152.—Nervio del músculo pectoral cutáneo de la rana.—Impregnación argéntica: *a*, tubo nervioso; *c*, estrangulación de Ranvier, de donde sale un tubo nervioso; *f*, una división en Y; *g*, división en cruz; *e*, vaina de Henle; *d*, vaina laminosa, con sus núcleos y líneas de cemento visibles sobre todo el haz.

Estos haces están además individualizados por una túnica especial de aspecto estriado circularmente, sembrada de núcleos aplastados y tingibles por el carmín. Esta envoltura que Ranvier denomina *vaina laminosa*, y Key y Retzius *perineuro*, está compuesta de varias hojas conectivas concéntricas, entre las que revistiendo las cavidades anulares que las separan, yacen células endoteliales. La impregnación argéntica revela netamente los contornos de éstas, á la manera de lo que sucede con el endotelio de los fascículos tendinosos (fig. 152, *d*).

Por último, dentro del haz nervioso, los tubos están separados entre sí por finísimos fascículos conectivos entrecruzados, de marcha casi siempre rectilínea y longitudinal (*endoneuro* de Key y Retzius, tejido *conectivo intrafascicular* de Ranvier). Moldeándose á la superficie de los tubos y llenando en parte los intersticios, se encuentran también células conectivas estelares, y gran copia de capilares finos dispuestos en red de mallas rectangulares (fig. 151, *g* y *h*).

e.—**Terminaciones nerviosas.** Los tubos nerviosos se ponen en relación con varias especies de células: las musculares, las glandulares y las epiteliales. A excepción de la terminación de los nervios

sensoriales que se verifica por células, todas las demás tienen lugar por extremidades libres protegidas ó no por aparatos especiales.

Los cordones nerviosos ramifícanse en su itinerario hasta que sólo constan de un manojo primitivo, es decir, de un corto número de tubos asociados bajo una cubierta común, que es la vaina laminosa ó perineuro. Estos manojos continúan ramificándose, y con ellos se ramifica el perineuro, el cual se torna de cada vez más delgado y transparente, formando envoltura, no sólo á los hacecillos de varios tubos, sino á los tubos aislados é independientes que corren á través de los tejidos en busca de su punto de terminación.

La cubierta perinéurica de los tubos aislados, llamada por Ranvier *vaina de Henle*, está constituída por una capa transparente, ligeramente granulosa, de trecho en trecho engruesada por núcleos alargados de sección óptica fusiforme (fig. 152, *e*). Entre la vaina de Henle y la cubierta de Schwan, existe un espacio tubular continuo lleno de plasma nutritivo y prolongado hasta el tejido conectivo intersticial de los manojos primitivos de los cordones nerviosos.

Los tubos nerviosos independientes se ramifican también, engendrando comúnmente dos ramas hijas más delgadas, aunque no son raras las divisiones en tres y aun en mayor número de tubos hijos, como de ello hay frecuentes casos en los husos musculares y en las terminaciones nerviosas del órgano eléctrico del torpedo. La dirección de las fibras hijas es sumamente variable: unas veces se apartan en ángulo agudo (división en Y); otras en ángulo recto (división en T). Cuando el tubo progenitor origina tres ramitas, una de ellas suele continuar el curso primitivo, y las otras dos emergen en ángulo ya recto (división en cruz), ya obtuso (fibras recurrentes). El número de divisiones sucesivas que puede sufrir un tubo originario es bastante considerable, variando comúnmente entre tres y seis. En el pectoral cutáneo de la rana, un nervio formado de 12 ó 16 tubos á lo más, provee de ramitas medulares á más de 300 fibras musculares, debiendo advertir que la mayor parte de las placas terminales de éstas poseen por lo menos dos tubos de mielina.

Las divisiones de los tubos nerviosos tienen lugar siempre al

nivel de una estrangulación, y los segmentos de las fibras engendradas son constantemente más cortos y delgados que los de las progenitoras. Cuando se observa atentamente una estrangulación divisoria, impregnada al nitrato de plata, se advierte que el cilindro-eje del tubo segmentante se ensancha en cono cerca del disco de soldadura y se divide en dos ramitas más delgadas que se continúan con el *cilinder* de los tubos recién engendrados. El disco de soldadura se engruesa por abajo, adquiriendo un pico ó espolón penetrante en el ángulo formado por la divergencia de las ramas hijas. La materia del cemento está atravesada por un túnel en Y donde se aloja la división del cilindro eje. Cuando el número de tubos originados pasa de dos, el disco puede presentar aberturas, no sólo en sus caras, sino en su circunferencia.

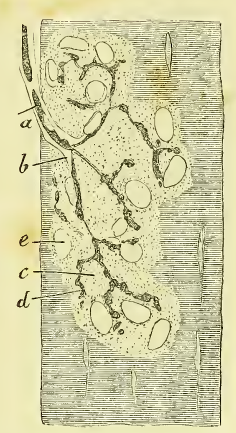


Fig. 153.—Una placa motriz de la lagartija.—Impregnación por el cloruro de oro (proceder de Loewit).—*a*, último segmento mielínico; *b*, terminación de la vaina de Henle y su continuación con el sarcolema; *c*, materia granulosa de la placa; *d*, fibras pálidas de la arborización; *e*, núcleos de la placa.

La materia del cilindro eje parece presentar propiedades especiales al nivel de su división, así como á su paso por las estrangulaciones. Cuando el *cilinder* teñido en vivo por el azul de metilo se trata por el ácido pícrico, se decolora en toda su extensión menos al nivel de las estrangulaciones y del principio de la arborización terminal.

Después de vario curso, y de multitud de divisiones, el tubo nervioso aborda el corpúsculo ó aparato terminal á que se halla destinado. Entonces pierde primero la vaina de Henle, que se funde con la cubierta del aparato terminal, luego la vaina de Schwan y la mielina, y queda reducido á un cilindro eje desnudo que se termina por uno ó varios cabos redondeados, sumergidos de ordinario en el seno de una materia granulosa.

Terminaciones nerviosas en los músculos estriados. Una fibra medular, producto de la última ramificación de un tubo nervioso, aborda un haz muscular ya transversal, ya oblicua, ya paralelamente á su eje. En el punto donde la fibra perfora el sarcolema, la

vaina de Henle se continúa con éste, la mielina y la membrana de Schwan cesan bruscamente, y el cilindro eje desnudo se hunde en una eminencia granulosa llamada placa ó colina motriz. En esta placa hay que considerar tres cosas: la *materia granulosa,* la *ramificación del cilindro-eje* y *los núcleos* (figs. 153, 154 y 155).

La materia granulosa es una masa de protoplasma, finamente granuloso y pálido, situada entre el sarcolema y la materia contráctil de la fibra muscular, y limitada por un contorno oval, elíptico ó irregularmente redondeado. En los reptiles, la circunferencia de la sustancia granulosa presenta lobulaciones, constituyendo á manera de atmósferas parciales para cada uno de los extremos de la ramificación del *cilinder* (fig. 153). La extensión de la placa granulosa varía mucho en las distintas especies; muy extensa en los reptiles y peces (de 80 á 85 μ en la lagartija), se reduce mucho en los mamíferos (de 30 á 40 μ en el conejillo de Indias), desapareciendo por completo en los batracios, ó al menos adelgazándose tanto que es imposible distinguirla.



Fig. 154.—Una placa motriz de la rata blanca.

Dicha materia se tiñe en violeta claro por el cloruro de oro, pero repugna todos los demás agentes tintóreos, tales como el carmín, hematoxilina, etc. Con buenos objetivos cabe distinguir en ella una trama reticulada y granulaciones aisladas muy finas. La cara profunda de este retículo recibe (como se demuestra fácilmente en las colinas terminales de los insectos) la inserción de las redes transversales de la materia estriada, siendo libre en su contacto con las estrías anchas, y adhiere por su cara superficial, bien que menos íntimamente, al sarcolema.

Ramificación del cilindro-eje. En general, el tubo nervioso, al tocar la sustancia granulosa, pierde la mielina y la membrana de Schwan, constituyendo la última estrangulación. A veces, se advierte en este punto el vestigio de un disco transversal que sin duda sirve para encolar al *cilinder* el extremo de la vaina de Schwan. En lugar de un solo tubo medular, pueden arribar á la placa dos ó más, producto de la división de la fibra nerviosa aferente. En tal caso, cada fibra mielínica constituye un pedazo de la arborización pálida

de la materia granulosa. En todo caso, el cilindro-eje, al penetrar en la placa, se adelgaza un tanto, se torna extremadamente pálido, tanto que es invisible en estado fresco, y se descompone en varias ramas secundarias y aun terciarias, originadas casi siempre en ángulo muy abierto y terminadas, dentro de los límites de la sustancia granulosa, por extremos libres redondeados ó ligeramente abultados. Por punto general, las ramitas de la arborización pálida terminal son algo más gruesas que el *cilinder* progenitor y de aspecto más varicoso y áspero. Además, la arborización posee distintas propiedades químicas que el cilindro-eje que le sirve de tronco. Éste se tiñe por el nitrato de plata, y poco por el cloruro de oro: mientras que aquélla se colora fuertemente por el oro, y nada por el nitrato de plata. El azul de metilo, previa decoloración del preparado por el ácido pícrico, abandona fácilmente la arborización, mientras que el *cilinder* conserva enérgicamente el color. De todo lo cual resulta bastante verosímil, que además de la materia granulosa de la placa existe alrededor de las fibras pálidas una cubierta especial aisladora, á la cual se deben las propiedades químicas de la arborización. Esta sustancia penetra también entre las hebrillas componentes de cada ramita de la ramificación, acumulándose más ó menos en ciertos parajes, circunstancia que explicaría las desigualdades y aspecto moniliforme de dichas ramas, así como la imposibilidad de percibir las fibrillas axiles que las componen.

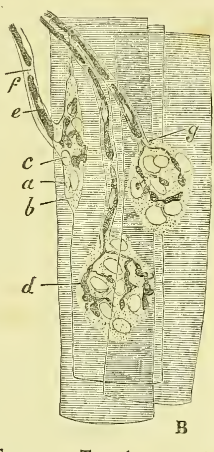


Fig. 155.—Tres placas motrices del músculo intercostal externo del conejo de Indias. —*a*, sarcolema continuado con la vaina de Henle; *b*, materia granulosa de la placa; *c*, núcleo; *d*, ramita varicosa de la arborización terminal; *e*, último segmento medular; *f*, estrangulación de Ranvier (proceder de Loewit).

Núcleos.—En el espesor de la placa yacen varios núcleos ovoideos, claros, incolorables por el oro, que ocupan de preferencia los intervalos que existen entre los tallos pálidos terminales. Alguna vez se los halla también superpuestos á éstos, pero sin continuidad sustancial con la materia que los forma (núcleos de la arborización).

La continuidad de la materia de la placa con la sustancia estriada muscular y la situación infrasarcolemática de la misma, da á entender que la placa no tiene la significación de un corpúsculo independiente multinuclear, sino la de una parte del protoplasma originario de la fibra estriada que ha conservado su constitución embrionaria. Bajo este aspecto, cabe afirmar que las fibras nerviosas motrices terminan no *sobre,* sino *en* en el espesor de una porción del corpúsculo muscular.

Terminaciones nerviosas motrices de los animales inferiores.—Las fibras estriadas de los batracios no poseen colinas terminales ni materia granulosa aparente en torno de los tallos pálidos. El aparato nervioso terminal está constituído exclusivamente por una ó varias fibras medulares, que, una vez desnudas de mielina, perforan el sarcolema, suministran en ángulo casi recto varias ramitas, pálidas, flexuosas y comúnmente paralelas al haz, y después de recorrer una extensión considerable de éste, rematan por cabos redondeados situados entre el sarcolema y la sustancia estriada. Los núcleos yacen ya al lado, ya sobre los tallos pálidos (véase la fig. 156).

En el pectoral cutáneo de la rana donde particularmente hemos estudiado las terminaciones nerviosas, con ayuda de un método especial de nitratación, (Observ. mic. sobre los terminaciones nerviosas en los músculos voluntarios, 1881), las arborizaciones adoptan gran variedad de formas. La más común consiste en un tubo generador de dos pequeñas ramitas medulares, las que, perdida la mielina, constituyen dos ramificaciones pálidas casi paralelas. A veces la arborización pálida proviene de un tubo medular especial y de las ramificaciones de un tallo pálido emergente de la estrangulación de una fibra mielínica destinada á un haz próximo (fig. 156-1). No es raro tampoco hallar haces con dos arborizaciones bastante próximas, dirigidas en sentido contrario y emanadas de tubos mielínicos absolutamente independientes. Estas son sin duda las terminaciones que Krause y otros han estimado como dobles. Por lo demás está demostrado desde las investigaciones de Sandmann que las fibras muy largas, tales como las del músculo sartorio de la rana, pueden presentar dos ó más terminaciones completamente independientes. Respecto de la extensión y forma de las ramificaciones pálidas hay también numerosas variedades. En ciertas fibras, los tallos pálidos son gruesos, casi rectilíneos y paralelos, y recorren casi la quinta y sexta parte de la longitud del haz, mientras que en otros haces musculares las ramitas pálidas son delgadísimas, varicosas, menuda y repetidamente ramificadas, constituyendo una arborización pequeña y apretada, muy semejante á la de los músculos de la lagartija.

En las aves, reptiles y peces, las terminaciones nerviosas son análogas á las de los mamíferos, salvo ligeras diferencias de forma y de tamaño. Las del lagarto son notables por el gran desarrollo de la arborización y por el aspecto lobulado de la materia granulosa (fig. 153).

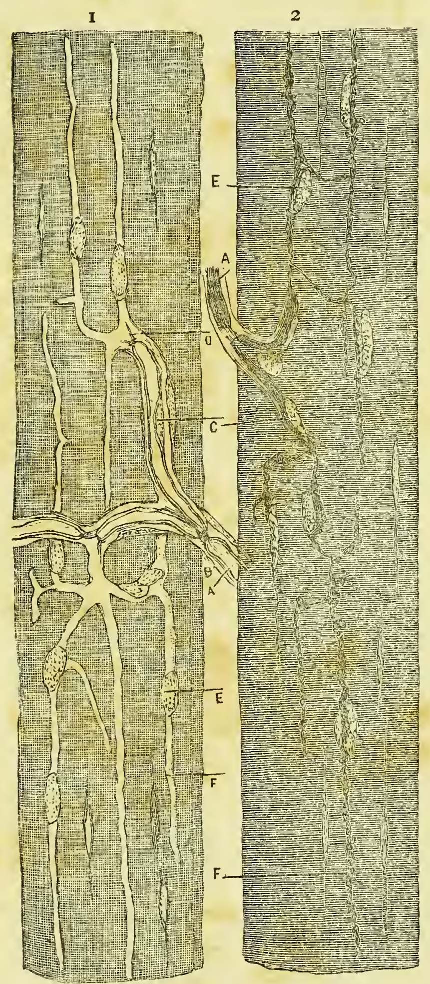


Fig. 156.—1. Arborización terminal de una fibra muscular de la rana.—Impregnación argéntica.—A, tubo medular aferente; E, núcleo de la arborización; F, fibra pálida de ésta; G, nacimiento de las ramas pálidas.
2. Arborización terminal de una fibra muscular de la rana.—Impregnación por el cloruro de oro.

En los insectos las colinas terminales aparecen muy claramente, y á veces son varias en cada haz muscular. La cubierta de la fibra nerviosa se continúa con el sarcolema, y el cilindro-eje esparce sus fibras en el seno de la materia granulosa, terminando allí de un modo desconocido. Como en los vertebrados, la placa posee varios núcleos.

Husos musculares.—Cuando se examinan las diversas fibras de un músculo estriado, llaman la atención ciertos haces, poco numerosos (dos ó tres en el músculo pectoral cutáneo de la rana) sumamente delgados, cuya parte central presenta un engrosamiento fusiforme, correspondiente á una terminación nerviosa. Estudiando atentamente la eminencia fusiforme, se advierten en ella tres partes principales: las *cápsulas*, las *fibras nerviosas* y la *materia granulosa*.

La cápsula ó cápsulas

(pues habitualmente son dos), caracterizan especialmente el huso muscular: son membranas delgadas, tubulares, separadas entre sí por espacios plasmáticos, anchos en el centro del huso, pero que se van estrechando en los extremos de éste donde aquéllas se juntan y confunden con el sarcolema. Estas cápsulas parecen ser de la misma naturaleza que la vaina de Henle, y como ella, poseen núcleos delgados cuya sección óptica aparece claramente al afocar el contorno del huso muscular (fig. 157, a).

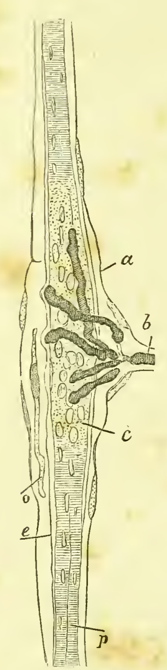


Fig. 157.—Huso muscular del pectoral cutáneo de la rana fijado al ácido ósmico.—*a*, cápsula; *b*, tubo medular aferente; *c*, materia granulosa; *e*, cápsula; *p*, porción bifurcada del haz muscular, donde la materia estriada aparece claramente. La arborización pálida no es visible en esta figura porque el ácido ósmico no revela más que las fibras medulares).

La fibra medular aferente, que suele ser muy robusta, atraviesa estas cápsulas, y ya entre ellas, ya entre la más profunda y el sarcolema, se divide en un número variable (2 á 5) de tubos medulares, gruesos y sumamente tortuosos, que corren divergiendo por la superficie del haz muscular. En el momento en que cesa la mielina, los cilindros ejes perforan el sarcolema y terminan por una arborización varicosa que se extiende por una gran parte de la superficie del haz, sobrepasando los límites del aparato capsular. En la culebra, lagartija, conejo indiano, etc., donde hemos estudiado especialmente estas arborizaciones, con ayuda del proceder de Loewit, se ven marchar hacia los extremos del haz dos ó más fibras pálidas, varicosas, larguísimas, que cubren gran parte de la sustancia estriada con numerosas y cortas ramitas transversales terminadas en un abultamiento.

Al nivel de la parte media de la figura terminal ó huso muscular, la materia estriada se torna granulosa, como protoplasmática, y ofrece un número considerable de núcleos. Los extremos del haz aparecen bifurcados, conservan siempre un diámetro reducido y en nada se diferencian de las fibras musculares comunes.

Además de las terminaciones nerviosas de los husos, cada una de estas fibras presenta una ó dos terminaciones ordinarias. Nos inclinamos á considerar como una disposición general esta doble terminación, pues la hemos observado muchas veces en la rana, conejo, culebra, lagartija, etc.

Es dudosa todavía la significación de los husos musculares. La opinión que parece más verosímil es la que los considera como aparatos sensitivos de los músculos, es decir, terminaciones destinadas á enviar al sensorio impresiones acerca del grado de energía de la contracción (sentido muscular). Las terminaciones comunes que poseen estas mismas fibras son probablemente de naturaleza centrífuga y tienen por objeto llevar á la materia estriada el estímulo de la contracción.

Terminaciones nerviosas en las fibras musculares de la vida orgánica. Las fibras nerviosas que animan las fibras musculares del intestino, vejiga, túnica media de las arterias, etc., son amedulares y en su mayor parte dimanan de los ganglios del gran simpático.

En el intestino, las fibras de Remack, reunidas en pequeños haces, constituyen un plexo *(plexo de Auerbach)* de anchas mallas, situado entre las dos capas de fibras musculares, es decir, entre la capa de las longitudinales y la de las transversales. En los puntos nodales de esta red, hállanse acúmulos de pequeñas células ganglionares, cuyas relaciones con las fibras nerviosas no están aún bien determinadas (fig. 158, a). De estos ganglios, así como de los nerviecitos del plexo, proceden fibras aisladas que, ramificándose y entrecruzándose, dividen cada malla de la red fundamental en una porción de espacios más pequeños, alargados y paralelamente dirigidos á las fibras lisas *(plexo secundario)*. Por último, los tallos de este plexo secundario suministran fibrillas todavía más finas que penetran en las capas limítrofes de fibrocélulas, suministrando infinito número de hebras, varicosas, tenuísimas, que marchan á lo largo de las células musculares, constituyendo un plexo intrincado *(plexo intersticial)*. Las fibrillas más finas ocupan el cemento de unión de las fibrocélulas y se terminan por extremidades libres, siendo imposible advertir en las mejores preparaciones otro modo de unión más íntima con el protoplasma contráctil. Así que, á

nuestro juicio, no existen ni las redes terminales, descritas por ciertos autores, ni las *manchas motrices,* indicadas por Ranvier.

En la vejiga de la rana, donde especialmente hemos estudiado las terminaciones nerviosas de la vida orgánica, ayudándonos de un método recientemente aplicado por Ehrlich y Dogiel (coloración en el vivo de las fibras nerviosas por el azul de metilo), puede fácilmente confirmarse un modo de terminación idéntico al descrito en el intestino. Varios hacecillos de fibras de Remack, acompañados de algunas fibras medulares, se desparraman por la túnica muscular de la vejiga, ramificándose abundantemente hasta reducirse á fibras independientes. En el curso de estos nerviecitos se descubren, de trecho en trecho, pequeños ganglios simpáticos de células análogas á las descritas por Beale en los ganglios cardíacos (véase más adelante células de los ganglios). Por fin, uno ó varios cilindros ejes independientes abordan un hacecillo muscular, recorriéndolo comúnmente en zigzag, y, después de un curso más ó menos largo, se descomponen en hebras finísimas, varicosas, paralelamente dirigidas á las fibrocélulas. Estas hebras, examinadas á grandes aumentos, aparecen constituídas por gránulos redondos, fuertemente teñidos de azul y unidos entre sí por un hilo de materia granulosa menos colorada. La terminación de las fibrillas tiene lugar por extremidades libres, en las que se muestra con frecuencia una esférula algo mayor que parece aplicada á la superficie de las fibrocélulas.

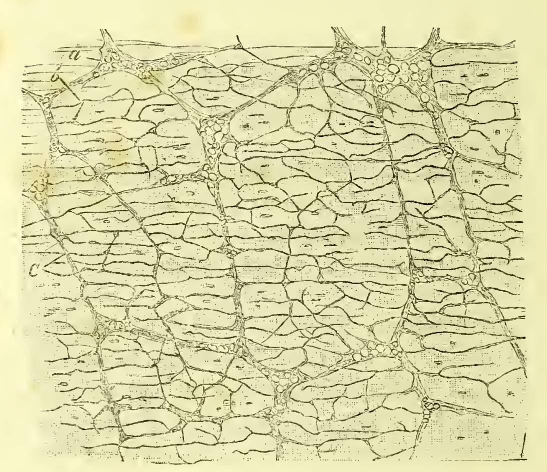


Fig. 158.—Plexo de Auerbach del intestino del conejo de Indias.—Impregnación por el cloruro de oro: *a*, ganglio; *b*, filamento del plexo secundario; *c*, tallo del plexo fundamental.

Terminaciones nerviosas en el corazón. Las fibras nerviosas de esta víscera son en su mayor parte de Remack, y proceden del plexo cardíaco y de los ganglios propios del corazón (de Bidder, Remack y Ludwig). En la rana, los pequeños nervios que marchan por el tabique interauricular, presentan abultamientos gangliónicos, se ramifican entre los paquetes de elementos musculares, construyendo un plexo de anchas mallas del cual proceden fibras más finas que penetran entre las células y terminan libremente en el cemento que las reune.

Las terminaciones en red de que hablan ciertos autores (Gerlach), así como la singularísima de Ranvier, quien afirma que las fibras nerviosas atraviesan longitudinalmente el espesor de las células contráctiles, no hemos podido confirmarlas.

En el corazón de los mamíferos nos ha parecido distinguir, con ayuda del método del oro, verdaderas placas motrices con muchos núcleos y una arborización vagamente dibujada.

Terminaciones nerviosas glandulares. Los nervios de la vida de relación, así como los simpáticos, se distribuyen por las glándulas cuya función está bajo la dependencia del sistema nervioso; pero se ignora cómo terminan los filetes nerviosos en las células glandulares. Kupffer, que ha estudiado las terminaciones nerviosas en las glándulas de los insectos, sostiene que el *cilinder* termina por una red de fibras finas en el espesor del protoplasma secretor. Spina y Stricker admiten también un modo de terminación semejante para las glándulas serosas de la rana. Ranvier, apoyándose en sus observaciones sobre la terminación nerviosa en las glándulas de la membrana nictitante de la rana, niega que las fibrillas axiles penetren en el protoplasma, y considera como probable terminación un plexo de filamentos nerviosos situado por fuera de las células glandulares y entre las fibrocélulas contráctiles que las recubren. La cuestión está *sub judice* y nada positivo puede afirmarse sobre este punto, dadas las dificultades que llevan consigo semejantes indagaciones.

Terminaciones en el órgano eléctrico de los peces. Los nervios que se reparten por los órganos eléctricos del torpedo, gimnoto, raya, etc., son de naturaleza centrífuga y en un todo asimilables á los motores de los músculos; sólo que, en vez de producir contracción, determinan una descarga eléctrica.

En el torpedo (que podemos tomar como ejemplo de estas terminaciones), los órganos eléctricos son dos lóbulos reniformes, aplastados de arriba á abajo y situados á los lados del cuerpo del animal, entre la piel del dorso y la del abdomen. La trama de estos órganos se compone de prismas exagonales, visibles á la simple vista, dirigidos paralelamente desde la cara dorsal á la abdominal, y separados por tabiques de tejido conjuntivo por donde circulan los vasos y marchan los nervios. Cada prisma se forma de la yuxtaposición de unas placas ó membranas delgadísimas (de 3 á 5 μ de espesor) insertas periféricamente en los tabiques conjuntivos. Tales placas, que se conocen con el nombre de *láminas eléctricas,* son verdaderas células gigantes multinucleares, que poseen una membrana dorsal hialina, brillante y tingible por la hematoxilina y las anilinas; una capa limitante inferior, granulosa, apenas perceptible, en cuya superficie se terminan los filetes nerviosos; y una capa protoplasmática media, sumamente transparente, que encierra esparcidos, acá y allá, núcleos escasos, esferoidales y algo aplanados. Este protoplasma, examinado con fuertes objetivos, aparece formada de un *reticulum* finísimo, de hilos flexuosos, moniliformes, que arrancan de la membrana dorsal para venir á perderse, bien en la cubierta inferior, bien en el mismo espesor del protoplasma (fig. 160, e). Por lo común, el retículo se presenta como acumulado junto á la membrana dorsal, existiendo un espacio más claro en la mitad inferior de la lámina eléctrica. No hemos podido confirmar la aserción de Krause, quien dice haber visto claramente estriaciones transversales en las hebras del retí-



Fig. 159.—Un trozo de lámina eléctrica del torpedo *marmorata,* vista por su cara inferior. *a,* mielina de un tubo nervioso; *b,* vaina de Henle; *c,* punto donde cesa la mielina; *d,* núcleo; *e,* punto en que cesa la vaina de Henle ó cubierta secundaria; *f,* ramita del cilindro eje; *g,* finas ramificaciones de éste; *h,* núcleo del protoplasma de la lámina eléctrica.

culo. Según este autor, la existencia de tales estriaciones y la analogía de propiedades que éstas ofrecen comparadas con las de los músculos, permitirían considerar el *reticulum* de las láminas eléctricas como sustancialmente idéntico al de las fibras musculares.

Los nervios destinados al aparato eléctrico son gruesos y proceden del lóbulo cerebral eléctrico, órgano notablemente voluminoso y caracterizado por la enorme talla de sus células. Los nervios recorren los tabiques conjuntivos interprismáticos y se descomponen en gruesos tubos independientes, los cuales, al abordar las láminas eléctricas donde han de distribuirse, se dividen, al nivel de una estrangulación, en un ramillete de 15 á 20 tubos medulares más finos *(ramilletes* de Wagner). Insinúanse estas fibras entre las láminas eléctricas y, aplicadas á la cara abdominal de las mismas, divídense y subdivídense repetidas veces hasta quedar reducidas á fibras pálidas ó simples cilindros ejes. Cada fibra medular está rodeada, además de la vaina de Schwan, por una cubierta delgada guarnecida de núcleos y muy semejante á la vaina de Henle *(vaina secundaria* de Ranvier). Dicha cubierta no cesa en el punto en que desaparece la mielina, sino que se prolonga algún trecho en torno del *cilinder* (figura 159, e) concluyendo por un reborde anular. En cuanto al cilindro eje, se bifurca repetidas veces en ángulo muy abierto (fig. 159) y sus ramitas más delicadas suministran una infinidad de tallos cortos, flexuosos, algo engruesados, que constituyen una arborización terminal apretada y complicadísima. Como las fibras pálidas son numerosísimas, y las arborizaciones que cada una de ellas engendra están muy próximas, puede afirmarse que toda la cara abdominal de la lámina eléctrica está cubierta del rameado terminal (fig. 161). Contra la opinión de ciertos autores, creemos que las ramitas

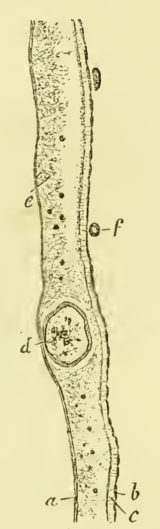


FIG. 160.—Corte de una lámina eléctrica del *torpedo marmorata*.—Ácido ósmico, fuchina é inclusión en parafina: *a*, membrana fundamental ó dorsal; *b*, corte de la arborización terminal; *c*, pestañas de la arborización; *e*, retículo del protoplasma de la lámina *f*, tubo medular cortado.

terminales no se anastomosan: de ello puede convencerse cualquiera fácilmente examinando una arborización impregnada por el nitrato de plata. En los puntos en que aparentan los tallos fusionarse, un buen objetivo de inmersión demuestra que hay simple superposición.

De la cara superior (la que se aplica á la lámina eléctrica) de los tallos pálidos arrancan unas pestañas, ó hilos cortos y brillantes que terminan adhiriéndose íntimamente al protoplasma de la lámina eléctrica. Dichas pestañas, que aparecen en las vistas de plano de la arborización como un punteado oscuro, se distinguen muy bien en los cortes transversales bajo la forma de una estriación marginal. La observación atenta de estos cortes pone de manifiesto que las tales pestañas parten exclusivamente de los tallos pálidos de la arborización y no de la materia transparente que los separa.

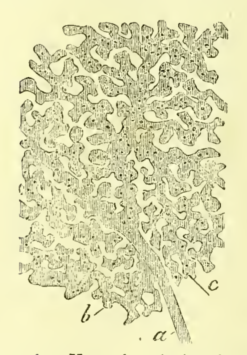


Fig. 161.—Un pedazo de la arborización terminal de las láminas eléctricas del torpedo.—Examen en agua previa maceración en ácido ósmico: *a*, ramificación de un cilindro eje; *b*, ramitas de la arborización terminal; *c*, pestañas vistas de punta.—Obj. $\frac{1}{30}$ apoc. Zeiss.

Terminaciones nerviosas sensitivas. Los nervios centrípetos terminan de tres maneras: por fibrillas axiles libres situadas entre los elementos epiteliales; por meniscos tactiles, y por aparatos especiales, cuyo objeto parece ser resguardar la extremidad libre del cilindro eje.

a.—Terminaciones sensitivas por fibrillas. Este modo de terminación es peculiar de los epitelios pavimentosos estratificados, particularmente del de la córnea y epidermis cutáneo.

La córnea es el órgano donde mejor pueden estudiarse estas terminaciones. Por la periferia de esta membrana penetran varios tubos medulares, los que, perdiendo á poco trecho la mielina y vaina de Schwan, recorren, bajo la forma de fibras pálidas, el espesor de la córnea, constituyendo, al anastomosarse entre sí, una red de anchas mallas cuyas nudosidades presentan la disposición de pequeños kiasmas (fig. 162, A). Las fibras que constituyen este plexo son guesas, marchan en zigzag, carecen de núcleos y muestran

claramente las hebras axiles que las constituyen, envueltas y ligadas por una materia granulosa acumulada en esferas, y especialmente ávida del oro y azul metileno. Desígnase esta red, que yace entre las láminas conectivas de la córnea, con el nombre de *plexo fundamental.*

Los tallos de este plexo suministran ramitas mucho más delgadas que atraviesan en escalera las capas corneales y, anastomosándose entre sí por debajo de la basal, forman una red aplanada mucho más rica y tupida que la anterior, que se ha llamado *plexo subbasal.* Las trabéculas de esta red son menos flexuosas que las del plexo fundamental, y encierran en sus nudosidades ó pequeños kiasmas, uno ó dos núcleos envueltos en cierta cantidad de materia granulosa (figu- 162, E, y 163, B).



FIG. 162.—Redes nerviosas de la córnea del conejo, teñidas en vivo por el azul de metileno. A, tallo de la red profunda ó fundamental; B, tallo de la red subbasal; C, ramita varicosa de las arborizaciones intraepiteliales; E, núcleos de un kiasma de la red subbasal; D, célula corneal emigrante; F, arborización terminal intraepidérmica.

De la red subbasal arrancan fibras sumamente finas y varicosas formadas al parecer de uno ó dos filamentos axiles primitivos. Estas hebras llevan un curso tortuoso, atraviesan la basal y, entrecruzándose por debajo de los pies de la primera fila de células epiteliales, constituyen un tercer plexo mucho más delicado que los anteriores y exento de núcleos: llámasele *plexo subepitelial.* Las fibrillas constructoras de este plexo, después de raras ramificaciones, recodan bruscamente, marchan verticalmente por entre las células epiteliales, moldeándose á sus contornos, y rematan ya entre los elementos de las capas profundas, ya en la misma superficie del epitelio mediante ligeros engrosamientos, ó á favor de una esférula de materia aurófila. En ciertos sitios, las fibrillas interepite-

liales son gruesas, fuertemente varicosas y se terminan por engrosamientos mucho más robustos (fig. 162 y 164).

No existen terminaciones nerviosas intracorneales destinadas á las células conectivas, contra el parecer de Kühne que las admite. Puede afirmarse que los nervios corneales están destinados al epitelio anterior; no obstante, en las preparaciones metiladas hemos visto con frecuencia algunas hebras libres que, emergiendo del plexo fundamental, constituían delicadas arborizaciones varicosas situadas cerca de la basal posterior.

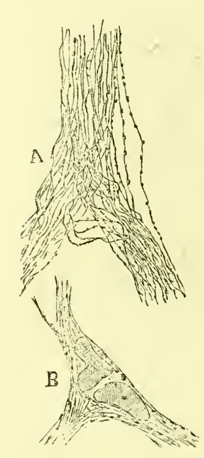


Fig. 163.—Dos kiasmas de la figura anterior más ampliados. A, kiasma de la red fundamental; B, kiasma con dos núcleos de la red subbasal.

En el epidermis de Malpigio de la piel, hállanse también terminaciones intraepiteliales. Las fibras medulares pierden la mielina y se dividen, al arribar á la superficie profunda del epidermis, en numerosas fibrillas pálidas. Desde este paraje marchan casi perpendicularmente á través de la capa de Malpigio, alojándose en el cemento semilíquido que separa las células, se ramifican parcamente y acaban, antes de alcanzar la zona granulosa del epidermis, por cabos libres varicosos y á veces discontinuos.

Langerhans, que describió estas fibrillas intraepidérmicas, señaló también la presencia de ciertos corpúsculos estrellados, colorables en violeta por el oro, corpúsculos que consideró como células nerviosas terminales, por haber creído notar su continuidad con los filamentos nerviosos; mas estudios posteriores han demostrado que tales células son simplemente leucocitos emigrantes del tejido conectivo que, si afectan con frecuencia relaciones con las fibras nerviosas, es por haber atravesado el epidermis á través de los pequeños túneles donde éstas se albergan.

b.—*Meniscos tactiles.* En el epidermis mucoso del hocico del cerdo termínanse las fibrillas intraepidérmicas de un modo especial. Cada fibra nerviosa, ya desnuda de mielina, atraviesa la capa más profunda del epidermis y se descompone á seguida en varias ramitas delicadas que terminan por un ensanchamiento irregular,

aplanado de arriba á abajo, y comparable con una lente biconvexa *(menisco tactil).* Este ensanchamiento yace por debajo de una célula epidérmica especial más redondeada que las otras y más colorable por el cloruro de oro.

En el hocico del topo, y en la proximidad del trayecto epidérmico de las glándulas sudoríparas del hombre, y hasta en el mismo dermis de la piel, se han hallado también estos meniscos tactiles, que pueden estimarse como la gradación entre las terminaciones simples y las por aparatos complicados.

c.—*Corpúsculos de Merkel.* En los rebordes mucosos de la lengua y pico de las aves hállanse unos corpúsculos sensitivos que, por haber sido descubiertos por Merkel, han tomado el nombre de este autor. Yacen en el dermis de la mucosa, á cierta distancia de las capas epidérmicas, alternando ó mezclándose con numerosos corpúsculos de Pacini de pequeña talla. Se componen, los más sencillos, de dos células gruesas, semiesféricas, de protoplasma reticulado y núcleo pálido, dispuestas de tal modo, que parecen tocarse por sus caras aplanadas. Una cápsula conjuntiva común, guarnecida de núcleos las enquista. La fibra nerviosa, después de perder sus túnicas (de las que la de Henle se continúa con la citada cápsula) penetra entre las células y termina libremente por un engrosamiento lenticular *(disco tactil)* (fig. 165). Cuando son varias las células asociadas en el corpúsculo de Merkel, la fibra aferente se termina por tantos discos tactiles como espacios intercelulares existen (fig. 165, A).

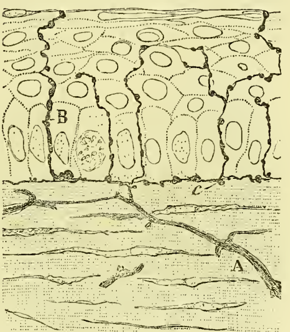


Fig. 164.—Corte antero-posterior del epitelio corneal del conejo.—Impregnación áurica por el proceder de Cohnheim. A, tallo de la red fundamental que va hacia el epitelio; *c,* sección de las trabéculas de la red subepitelial; B, filamento varicoso de terminación que llega hasta la misma superficie epitelial.

d.—*Corpúsculos de Meissner.* Habitan en las papilas de la piel, particularmente en las de la cara palmar de los dedos, en las del dermis labial, mamelón y órganos genitales externos. Estos corpúsculos tienen una figura oblonga, á veces tuberosa y lobulada,

y yacen perpendicularmente orientados, en la cima de las papilas, casi tocando el epidermis. No todas las papilas de las referidas regiones las contienen, pues existen algunas (papilas vasculares) provistas exclusivamente de un asa capilar. El diámetro de los corpúsculos de Meissner es sumamente variable, oscilando entre 30 á 50 μ de longitud por 20 á 30 de anchura.

Constan estos corpúsculos: de una cápsula fibrosa, gruesa y abundante en núcleos, continuada con la cubierta de Henle de las fibras nerviosas aferentes; de una masa central construída de células irregulares ordenadas en pilas verticales apretadas é imbricadas, y cuyos núcleos, alargados transversalmente, prestan al todo aspecto groseramente estriado; y de una ó varias fibras medulares que abordan el corpúsculo á diversas alturas, serpenteando á menudo por cima de la cápsula, penetran, perdida ya la mielina, entre las pilas de células y constituyen una rica y complicada arborización. Los tallos terminales son varicosos, caminan transversalmente y acaban por abultamientos lenticulares ó simples engrosamientos irregulares, situados en los espacios cóncavos que separan los corpúsculos centrales. Este modo de terminación por meniscos tactiles recuerda los corpúsculos de Merkel de las aves, que no son en realidad sino una forma más simple y menos irregular de los órganos de Meissner.

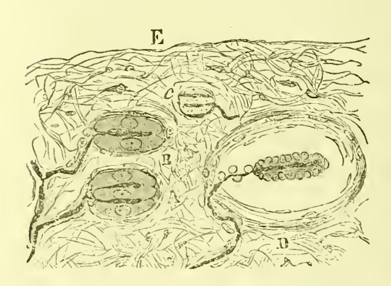


Fig. 165.—Tejido conectivo subepitelial de la mucosa del pico del ánade.—Impregnación áurica por el proceder de Loewit. A, corpúsculo de Merkel con dos discos táctiles; B, otro con un solo disco; C, uno pequeñísimo con dos discos; D, corpúsculo diminuto de Pacini ó de Herbs. E, superficie en contacto con el epitelio.

e.—*Corpúsculos de Pacini*. Son unos cuerpos oblongos, de 1 á 2 milímetros de longitud, que se encuentran en las regiones profundas del dermis de la piel, particularmente en la del pulpejo de los dedos. Hállaselos también, aunque en escaso número, en los nervios articulares, en los que se esparcen por los huesos, ligamentos interóseos de la pierna y antebrazo, los órganos genitales externos, el perimisio interno de los músculos, etc. Son extrema-

damente notables y numerosos en el mesenterio y mesocolon del gato, mucosa de la lengua y pico de las aves, etc.

Se componen los corpúsculos de Pacini: de una masa central granulosa, prolongada según el eje mayor del corpúsculo y redondeada por sus extremos; y de una serie de cápsulas concéntricas, verdaderas láminas de tejido conjuntivo, separadas por espacios linfáticos y revestidas en su cara interior por una capa de células endoteliales cuyos núcleos aplanados forman prominencia hacia adentro. Las cápsulas próximas á la materia granulosa central son más delgadas y están más juntas que las periféricas. La fibra nerviosa medular aborda el corpúsculo por uno de sus polos; atraviesa las cápsulas, y, al llegar á la sustancia granulosa, pierde la mielina y la membrana de Schwan. El cilindro eje, después de recorrer casi toda la longitud de la materia granulosa pálida, termina en el espesor de ésta por ligera intumescencia. A veces, y esto es disposición casi constante en los corpúsculos de Pacini del mesenterio del gato, al llegar el *cilinder* al polo superior de la mencionada sustancia, se descompone en un penacho de fibras terminadas por cabos redondeados que se alojan en un divertículo especial ó prolonción mamelonada de la cavidad donde se contiene la materia granulosa central. La membrana de Henle, que acompaña al tubo nervioso, y que por cierto es sumamente gruesa, se continúa con las diversas cápsulas conectivas, rematando y fundiéndose con la más concéntrica de todas.

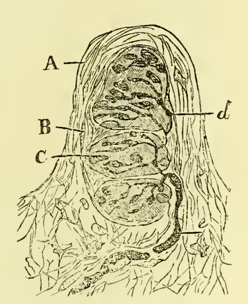


FIG. 166. — Corpúsculo de Meissner de la piel humana. —Impregnación por el proceder de Loewit.—A, tejido conectivo de la papila; B, cubierta fibrosa del corpúsculo; C, núcleo de la masa celular central; *d*, filamentos en que se divide el *cilinder*; *e*, tubo medular aferente.

Los corpúsculos de Pacini del pico de las aves (fig. 165, D), son mucho más pequeños; poseen menor número de cápsulas, y se caracterizan especialmente por la circunstancia de que la materia granulosa central exhibe dos hileras marginales de núcleos. Además, el *cilinder*, no ramificado, remata en un grueso abultamiento. Estos órganos se conocen también con la designación de *corpúsculos de Herbst*.

f.—*Corpúsculos de Krause.* Son aparatos más sencillos y menos voluminosos que los de Pacini. Están situados, de ordinario, en el dermis de la mucosa conjuntiva, en el de la lingual, velo del paladar, órganos genitales externos, etc. El tamaño de estos corpúsculos oscila entre 40 á 50 μ de longitud por 20 á 30 de anchura. Se componen: de una cápsula conectiva, expansión de la vaina de Henle; de una masa granulosa interior, prolongada en forma de maza; y de una fibra nerviosa aferente, que, desnudándose de sus cubiertas al abordar el corpúsculo, acaba cerca del polo superior de la masa granulosa á favor de ligero ensanchamiento, frecuentemente sembrado de granulaciones refringentes.

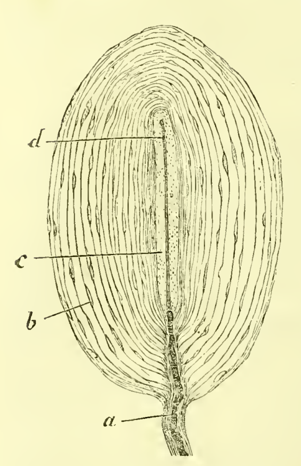


Fig. 167.—Corpúsculo de Pacini del hombre.—Ácido ósmico y examen en el agua. *a*, tubo medular aferente; *b*, cápsula con su núcleo; *c*, materia granulosa central; *d*, cilindro eje terminal.

Los corpúsculos de Krause descritos son los más simples y comunes de las mucosas de los mamíferos inferiores; mas en la conjuntiva ocular del hombre y del mono hállanse unas formas algo más complicadas que podrían llamarse *órganos compuestos* de Krause. La forma de estos especiales corpúsculos es esferoidal: su tamaño oscila entre 25 y 95 μ. Su materia granulosa central, en vez de ser homogénea, aparece repartida en células bien deslindadas, y, finalmente, el tubo aferente se divide, una vez atravesada la cápsula, en varias ramitas medulares que, reducidas á cilindros ejes, terminan probablemente por cabos libres situados entre las células centrales.

Terminaciones sensoriales. *a.—Retina.* Esta membrana, expansión del nervio óptico, es el resultado de la aproximación y adherencia de las dos paredes, anterior y posterior, de la vesícula ocular embrionaria. La pared anterior, notablemente engruesada, engendra las capas retinianas comprendidas desde la de los bastoncitos hasta la limitante interna; mientras que la pared posterior origina solamente la capa epitelial ó pigmentaria. En el curso del

desarrollo las capas retinianas anteriores (desde la granulosa interna hacia adelante) de los mamíferos son invadidas por los capilares sanguíneos, mas no por elementos conjuntivos mesodérmicos. El papel de éstos está desempeñado en la retina por corpúsculos originariamente ectodérmicos que, por diferenciaciones sucesivas, adquirieron enorme talla y una disposición como esponjosa, á propósito para servir de medio de sostén de los demás *(fibras de Müller* ó *células neuróglicas).*

Estudiaremos en la retina, de acuerdo con los autores más modernos, diez capas ó zonas distintas que, contando de dentro á afuera, son: 1.°, *limitante interna;* 2.°, la de las *fibras del nervio óptico;* 3.°, la *ganglionar;* 4.°, la *reticular interna;* 5.°, la *granulosa interna* ó de los *granos internos*; 6.°, la *reticular externa* ó *plexo subepitelial;* 7.°, la *granulosa externa* ó de los *cuerpos de los bastones y conos;* 8.°, la *limitante externa;* 9.°, la de los *conos y bastoncitos* ó *neuroepitelial,* y 10, la *pigmentaria.* Casi todas estas capas se constituyen por la asociación de dos clases de elementos: los nerviosos y los neuróglicos (véanse las figuras 168 y 169).

Elementos neuróglicos. Llamados también *fibras de Müller* ó de *sostenimiento,* son unos corpúsculos

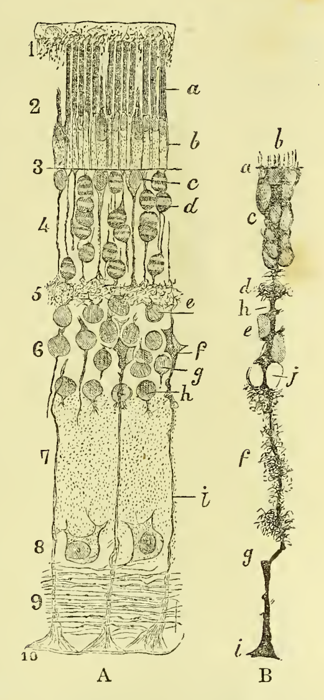


Fig. 168.—A. Retina del cordero seccionada previa fijación al ácido ósmico, coloración á la fuchina ácida é inclusión en parafina. 1, capa pigmentaria; 2, bastones y conos; 3, limitante externa; 4, granos externos; 5, reticular externa; 6, granos internos; 7, reticular interna; 8, células ganglionares; 9, fibras del nervio óptico; 10, limitante interna; *a,* artículo externo del bastón; *b,* artículo interno; *c,* grano de cono; *d,* grano del bastón; *e,* células subreticulares; *f,* fibra de Müller con su núcleo deformado por crestas de impresión; *g,* bipolares; *h,* espongioblastos; *i,* fibra de Müller.
B. Una fibra de Müller del carnero impregnada por el proceder de Golgi. *a,* limitante externa; *b,* filamentos insinuados entre los bastones y conos; *c,* fosetas para los granos externos; *d,* expansiones rizadas que forman la capa reticular externa; *h* y *e,* huecos para las células subreticulares y bipolares respectivamente; *j,* hueco profundo para los espongioblastos; *f,* prolongaciones lanosas de la zona reticular; *g,* región de las células ganglionares; *i,* cono terminal.

alargados, de una estatura casi igual al espesor de la retina, los que, arrancando de la limitante interna y atravesando perpendicularmente las capas nerviosas, se terminan al nivel de la limitante externa. La disposición de estas células varía en las diversas capas retinianas. Al nivel de la limitante interna, comienzan por un extremo abultado en forma de cono, cuya base plana, guarnecida por delicada placa hialina, se junta con la de los demás elementos, construyendo un mosaico poligonal revelable por el nitrato de plata. Al pasar las fibras de Müller á la zona de los filamentos del nervio óptico y ganglionar, se adelgazan y apartan emitiendo á veces escasas y cortas expansiones insinuadas entre los corpúsculos nerviosos. Durante su tránsito por la zona reticular interna, emiten prolongaciones finas, granulosas, enmarañadas, que se entrelazan con las llegadas de las fibras próximas engendrando un plexo inextricable. El aspecto de las fibras de Müller cambia al atravesar el estrato de los granos internos; aquí se engruesan bruscamente, ofrecen un abultamiento para el núcleo y numerosas mortajas ó fosetas para alojar los elementos nerviosos, entre las que resaltan por su amplitud y regularidad las más internas consagradas á los espongioblastos (fig. 168, B, j). Una parecida disposición tiene lugar al nivel de los granos externos (fig. 168, B, c). Y por fin, sobre la limitante externa vuelven á reunirse los extremos de las células neuróglicas, dando lugar á la formación de una membrana brillante, recta y sumamente del-

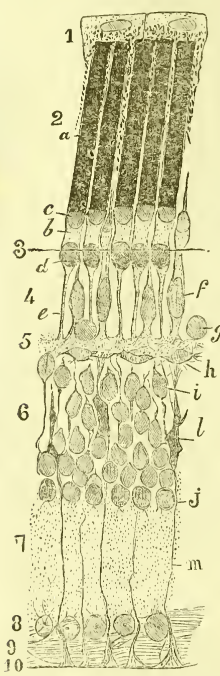


Fig. 169.—Corte de la retina de la rana.—Acido ósmico y carmín. 1, capa de las células pigmentarias; 2, de los bastones y conos; 3, limitante externa; 4, granos externos; 5, reticular externa; 6, granos internos; 7, reticular interna; 8, células ganglionares; 9, fibras del nervio óptico; 10, limitante interna; *a*, artículo externo de los bastones; *b*, artículo interno de éstos; *c*, cuerpo semielipsoideo; *d*, grano del bastón; *e*, fibra del bastón; *f*, grano del cono; *g*, células suprareticulares; *h*, células subreticulares ó estrelladas; *i*, bipolares; *l*, núcleo de las fibras de Müller; *j*, espongioblastos; *m*, fibra de Müller.

gada, que por su cara externa emite delgadas espinas insinuadas entre los conos y bastones (fig. 168, B, b).

Tal es la disposición de las fibras de Müller en los mamíferos, batracios, etc.; pero en las aves, donde particularmente las hemos estudiado con ayuda del proceder de Golgi, ofrecen una variante de importancia. Partiendo de la superficie externa de la retina, y arribadas al límite de la capa reticular interna, se dividen en un mechón de finísimos hilos, los cuales perforan, sin ramificarse, las zonas reticular interna, ganglionar y fibrosa, y terminan por ligero abultamiento en la limitante interna.

Describamos ahora las diversas capas retinianas:

1.—*Limitante interna.* Está constituída exclusivamente por la reunión en membrana continua de los extremos internos de las fibras de Müller (fig. 168, 10, y 169, 10), y es una cutícula hialina y correctamente contorneada.

2.—*Capa de las fibras del nervio óptico.* Más espesa en las regiones posteriores próximas á la entrada del nervio que en las anteriores de la retina, esta zona se compone de cilindros ejes varicosos, de espesor variable y dispuestos en manojos divergentes á partir de la papila.

Fig. 170. — Retina del carnero impregnada por el proceder de Golgi. A, bastones y conos; B, granos externos; C, reticular externa; D, granos internos; E, reticular interna; F, fibras del nervio óptico; *a*, célula estrellada ó subreticular; *b*, bipolar; *d*, penacho inferior de la bipolar.

3.—*Capa ganglionar.* Así llamada por contener una ó dos hileras de células nerviosas, gruesas, granulosas y en un todo comparables á las de las astas anteriores de la médula.

Estas células envían á la capa subyacente de fibras del nervio óptico un filamento de Deiters, y á la reticular interna dos ó tres ramas protoplasmáticas, que se ramifican repetidamente, constituyendo un plexo muy rico extendido hasta la proximidad de los granos internos. Bajo el punto de vista del tamaño, las células nerviosas ganglionares se distinguen en grandes, cuyas ramas protoplasmáticas alcanzan hasta la capa de

los granos externos; y pequeñas, caracterizadas por la circunstancia de que las expansiones protoplasmáticas, mucho más delgadas y varicosas, no pasan de la mitad interna de la zona reticular inmediata (fig. 170).

4.—*Capa reticular interna.* Llamada también molecular interna ó finamente granulosa, plexo cerebral, etc., es un estrato espeso, pálido, sin núcleos, que aparece granujiento á débiles aumentos, y reticulado bajo fuertes objetivos. En las preparaciones de retina obtenidas por el proceder de Golgi se advierte que la disposición reticulada es pura apariencia, debiéndose á la asociación y entrecruzamiento de numerosas fibrillas: unas ascendentes, dimanadas de las células de la capa ganglionar; otras descendentes, llegadas de los espongioblastos y células bipolares de la zona de los granos internos; y otras transversales, ó poco menos, nacidas de las partes laterales de las fibras de Müller. En las aves este plexo está notablemente enriquecido por los pinceles descendentes de los corpúsculos neuróglicos.

Todas estas fibras se entrecruzan de un modo irregular en los mamíferos, pero en los vertebrados inferiores (aves, reptiles, batracios), se disponen de preferencia en estratos ó pisos de entrecruzamiento, á cuyo nivel las fibras se tuercen y forman plexos horizontales, es decir, paralelos á la retina. En la retina de la paloma, gallina, pato, etc., estas capas, que ofrecen la apariencia de estrías granulosas, son en número de cuatro ó cinco, y de ellas la más inferior representa el plano de ramificación y expansión de los extremos profundos de las células bipolares largas y de las expansiones protoplasmáticas de las células ganglionares pequeñas; y las más superiores constituyen los pisos donde se cruzan y descomponen las expansiones de las bipolares cortas y las ramas más altas de las ganglionares voluminosas, ramas que pueden ordenarse hasta en tres planos de entrecruzamiento.

5.—*Capa de los granos internos.* Esta zona es gruesa y de apariencia granulosa examinada con débiles objetivos; diríase que está exclusivamente formada de núcleos sumamente apretados. Estudiada con fuertes aumentos y ayudándose de la disociación, se nota que todas las células que la forman poseen protoplasma y finas expansiones granulosas (fig. 168 y 169, c).

Bajo el punto de vista de la forma, así como de su situación y

conexiones, estos elementos se distinguen en tres especies distribuídas en tres subcapas que son de fuera á adentro: las *células estrelladas* ó *subreticulares;* las *bipolares* ó *en penacho,* y los *espongioblastos.*

Las *subreticulares* están situadas inmediatamente por debajo de la zona reticular externa; son aplastadas de fuera á adentro y estrelladas si se las examina de plano. Las numerosas expansiones protoplasmáticas que surgen de sus bordes, dirígense hacia afuera y penetran en la zona reticular, donde se entrecruzan con las llegadas de las células limítrofes y con las demás fibras que surcan esta capa. No hemos podido comprobar, entre las expansiones de estos corpúsculos, las anastomosis que describen Dogiel y Tartuferi. En cambio, consideramos muy probable, con este último autor, que una de las expansiones de tales células, que gana á veces la zona reticular interna, tenga la significación de un cilindro-eje.

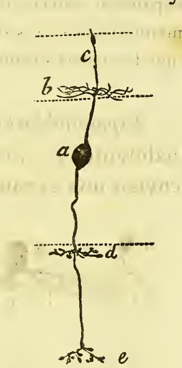


FIG. 171.—Célula bipolar de la retina de la paloma.—Impregnación por el proceder de Golgi.—*c*, maza de Landolt; *d*, arborización lateral del pie de la célula bipolar; *e*, arborización terminal; *b*, ramitas que forman la capa reticular externa.

Células bipolares. Son las más numerosas, constituyendo varias hileras de corpúsculos apretados. Poseen un cuerpo redondeado, en gran parte ocupado por el núcleo, y dos expansiones, interna y externa: la externa, á menudo doble ó triple, remata luego, descomponiéndose en un penacho de finísimas hebras, de curso varicoso, que penetran en la zona reticular externa, extrecruzándose con las emanadas de las estelares y de los pies de los bastones y conos; y la interna mucho más delgada, atraviesa verticalmente la zona reticular interna, terminando de repente cerca del límite inferior de ésta por una arborización varicosa y casi horizontal (figuras 170 y 171).

No hemos podido confirmar las anastomosis que señala Tartuferi entre estas arborizaciones, y sospechamos que este autor ha sido inducido á error por la proximidad y aun contacto de las ramitas más periféricas.

En las aves, la expansión periférica, ordinariamente única, emite, además del penacho de hebras destinadas á la capa reticular externa, una fibra varicosa, casi recta, que, marchando entre los granos externos, concluye por un engrosamiento, situado bien por debajo de la limitante, bien todavía más allá en la zona de los bastones y conos. Estas expansiones rectas que el proceder de Golgi revela claramente, se hallan también en la retina de los reptiles, batracios y peces, y representan indudablemente las descritas por Landolt, y confirmadas por Ranvier, en la salamandra y tritón (*mazas* de Landolt). La expansión interna ó inferior de las células bipolares de las aves presenta á menudo dos ó tres órdenes ó pisos de arborizaciones que contribuyen á formar las líneas granulosas de la zona reticular interna (fig. 171).

Espongioblastos. Son células gruesas ordenadas en una hilera, habitantes en los confines de la capa reticular interna, á la que envían una expansión que suministra luego numerosos ramitos divergentes que cruzan los de las células ganglionares. El nombre de espongioblastos (Müller), se les dió porque se había creído que tienen la propiedad de formar la red ó esponja de la zona reticular; pero los nuevos procederes analíticos permiten considerarlos como verdaderas células nerviosas, cuyas expansiones van todas á perderse en la capa reticular interna ó plexo cerebral, conservando su independencia hasta su terminación. Dogiel describe en algunas de estas células un filamento de Deiters cuya existencia hemos logrado confirmar también. Este filamento se continúa probablemente con las fibras del nervio óptico (figs. 168, h; 170, c, y la 172).

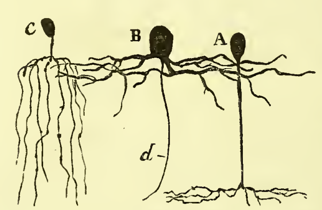


Fig. 172.—Espongioblastos de la retina de las aves (gorrión).—Coloración por el proceder de Golgi.—Se ven tres clases de espongioblastos: B, espongioblasto gigante y ramificado, el cual emite un cilindro-eje *d;* A, otro más pequeño, de tallo largo y grueso; C, otro también de talla reducida pero con numerosas expansiones delgadísimas y descendentes (esta variedad ofrece todas las apariencias de las células neuróglicas).

6.—*Capa subepitelial ó reticular externa.* Esta zona es pálida, finamente granulosa y sin núcleos á pequeños aumentos; pero con buenos objetivos de inmersión y especialmente en las preparaciones teñidas por el proceder de Golgi, se nota que consta de numerosas fibras entrecruzadas: unas descendentes y algo oblicuas emanadas

de los bastones y conos; otras ascendentes que parten de las células bipolares y estelares, y otras transversales llegadas de las fibras de Müller (fig. 168 y 169, 5).

7.—*Capa de los granos externos ó granulosa externa.* Esta zona, más espesa que la interna en los mamíferos, es más delgada que ésta en las aves, reptiles y batracios, donde se halla representada solamente por dos hileras de corpúsculos. Las células que la habitan no son más que las expansiones internas de los bastones y conos que llegan, prolongándose en fibra, hasta la zona reticular externa.

La prolongación del cono comienza gruesa junto á la limitante, á cuyo nivel encierra el núcleo (grano del cono), después se adelgaza bruscamente y, al llegar á la capa reticular externa, se transforma en un cono de base inferior, de donde emergen numerosas fibrillas, flexuosas y varicosas que se entrecruzan, marchando casi horizontalmente, con las emanadas de los conos vecinos, y especialmente con las procedentes del penacho de las células bipolares.

La fibra del bastón es más fina y presenta á una altura variable un núcleo que ofrece la particularidad de exhibir la cromatina dispuesta en dos ó tres bandas transversales, alternadas con espacios claros (fig. 168). Por debajo del núcleo (grano del bastón), se adelgaza notablemente la expansión del bastoncito y se termina, bien por un engrosamiento redondeado, situado cerca de la capa reticular externa, bien por un filamento que, sumergiéndose en ésta, acaba de un modo desconocido.

En los batracios, aves y reptiles, las expansiones de los bastones rematan, como las de los conos, en los límites de la zona reticular, mediante un engrosamiento conoideo de base inferior, de donde emanan tenues fibrillas penetrantes en la referida capa.

8.—*Capa limitante externa.* Es una membrana finísima, rectilínea, formada por la reunión de las chapas que por sus extremos externos presentan las fibras de Müller. Esta membrana está acribillada de multitud de agujeros para el paso de las prolongaciones profundas de los conos y bastones (figs. 168 y 169, 3).

9.—*Capa de los bastones y conos* llamada también *membrana de Jacob,* y zona de las *células visuales.* Por fuera de la membrana limitante externa se ve una hilera de elementos alargados, perfectamente

rectilíneos y dispuestos como las estacas de una empalizada. Estos corpúsculos se distinguen por su forma en dos variedades: los *bastones* y los *conos*.

Los *bastones* son filamentos cilíndricos, de contorno rectilíneo y de una longitud de 60 μ por 2 ó 2 y 1/2 de anchura. Están mezclados á los conos é implantados perpendicularmente sobre la limitante interna. Constan de dos segmentos que se distinguen por sus diversas propiedades, aunque son continuos sustancialmente: el *externo* y el *interno*. El *externo* es hialino, birrefringente, colorable en negro por el ácido ósmico, incolorable por el carmín, y ofrece ciertos canales delgados longitudinales, que le prestan aspecto estriado á lo largo. El agua salada le descompone en discos transversales sumamente delgados, especie de chapas epiteliales reunidas por un cemento sumamente alterable; y á su alrededor existe una membrana homogénea, formada, según Kühne, de *neurokeratina*. El *segmento interno* es más grueso, algo abultado en su región central, de aspecto granuloso, colorable por el carmín é incolorable por el ácido ósmico. Cerca de su continuación con el externo encierra un glóbulo alargado, de forma semielipsoidea (corpúsculo elipsoideo), constituído por una materia poco afine del carmín y hematoxilina y estriada finamente en sentido longitudinal (fig. 169, c).

La retina fresca es de un color rojo uniforme, excepto en la *fovea centralis*. Esta coloración se debe á la presencia de una materia colorante sensible á la luz actínica, exclusivamente depositada en los artículos externos de los bastones *(púrpura visual, rodopsina, fotoestesina,* etc.).

El tamaño y forma de los bastones varía en las diversas especies de animales. Los peces y batracios son los que poseen los bastones más voluminosos (140 μ de longitud en los peces y 50 μ en los batracios). En estos últimos animales existen dos especies de bastones, unos de segmento interno corto y externo largo colorado en rojo, y otros de segmento interno más largo y externo corto y teñido de verde (Boll, Kühne, Schwalbe).

Los *conos,* más cortos que los bastones y mucho menos numerosos que éstos, excepto en la foseta central donde se encuentran de un modo exclusivo, son cilindros gruesos y de una forma que puede compararse con la de una botella. También poseen los conos dos

segmentos de propiedades análogas á las de los bastones (fig. 169); sólo que el interno, que corresponde á la parte más gruesa, encierra un corpúsculo elipsoideo mucho más robusto.

En la unión del segmento interno con el externo de los conos de las aves, reptiles, *ganoides* entre los peces y marsupiales entre los mamíferos, hállase una ó varias esferas brillantes teñidas de colores antifotogénicos. En las aves, estas esferas son más gruesas que el cono donde se albergan, por lo que sobresalen de los contornos de éste y presentan un color rojo, amarillo ó anaranjado. Estos granos están formados de una grasa ennegrecible por el ácido ósmico, y de una materia colorante disuelta que, cuando es amarilla, se llama *cromofana;* cuando roja, *rodofana;* cuando naranja, *xantofana,* y cuando verdosa, *clorofana* (Kühne). Aparte de estos corpúsculos colorados, cuya sensibilidad á la luz es mucho menor que la de la fotoestesina de los bastoncitos, los segmentos internos de los conos de las aves poseen gránulos dispersos é irregulares de una materia colorante lila ó anaranjada.

La forma y tamaño de los conos dista mucho de ser idéntica en los diversos animales. En los reptiles y aves apenas se diferencian de los bastones en espesor y longitud, siendo mucho más numerosos que éstos. En los batracios son pequeñísimos y sumamente cortos (fig. 169). Por último, los animales nocturnos, tales como el topo, murciélago, buho, etc., carecen de ellos.

Los corpúsculos elipsoides son pequeños en los vertebrados inferiores y faltan en los reptiles, donde están reemplazados por unas esferas que se tiñen en rojo vinoso por el yodo *(cuerpos ovales* de Merkel).

10.—*Capa pigmentaria.* Está constituída por un estrato de células alargadas que contienen cristales de pigmento en su interior. La extremidad externa de estas células es maciza, contiene el núcleo y forma un pavimento exagonal bastante regular: mientras que la interna aparece descompuesta en numerosos hilos granulosos, á veces portadores de granos melánicos, los que, insinuándose entre los conos y bastones, forman á los extremos de éstos una atmósfera pigmentaria absorbente de la luz.

Terminaciones nerviosas en la retina. Las fibras del nervio óptico se dividen en dos especies: unas, que forman inmediatamente la prolongación de Deiters de los corpúsculos de la capa ganglionar, y otras, que penetran en la zona reticular interna y de las que algunas rematan verosímilmente en la expansión inferior ó nerviosa de los espongioblastos y células estrelladas ó subreticulares. Cier-

tos autores reconocen una tercera clase de fibras que, anastomosándose con las arborizaciones de los pies de las células bipolares, se pondrían, mediante los penachos superiores de éstas, en conexión de continuidad con los conos y bastones, partiendo del supuesto de que los citados penachos se anastomosan realmente en el espesor de la zona reticular externa con las raicillas nacidas del pie de los conos y con la fibra varicosa del grano del bastoncito. De esta suerte, los conos y bastones vendrían á representar esas células bipolares de terminación que se suponen existentes en los demás epitelios sensoriales (mucosa olfatoria, gustativa, etc.). Nosotros aceptaríamos de buen grado esta opinión; pero nuestras pesquisas en la retina de las aves y mamíferos, con ayuda del método de Golgi, no nos han mostrado jamás, de un modo evidente, la continuación sustancial de una raicilla de cono con los penachos de los elementos bipolares, ni tampoco la del pie arborizado de éstas con las fibras del nervio óptico. Aquí, como en los centros nerviosos, no existen anastomosis celulares, sino plexos formados por el entrecruzamiento de innumerables expansiones protoplasmáticas libremente terminadas. Por otra parte, no está probado que los pies de los bastones y conos no presenten algún filamento de Deiters continuado directamente con una fibra de la capa del nervio óptico. En la retina de los pájaros hemos visto salir muchas veces de entre las raicillas de los conos una ó varias fibras descendentes, las cuales se prolongaban á través de los granos internos hasta la zona reticular. Si se lograra demostrar la continuidad de una de estas fibras con las de la capa del nervio óptico, la cuestión se simplificaría singularmente, pudiéndose estimar entonces los conos como células nerviosas de terminación, evitándose la admisión de anastomosis directas, que, como ya hemos dicho anteriormente, no pueden demostrarse en ningún departamento de los centros nerviosos. La cuestión exige, para resolverse definitivamente, nuevas pesquisas. Entretanto, la fisiología demuestra que la impresión de las imágenes visuales tiene lugar en la capa de los conos y bastones, y es preciso relacionar de alguna manera estos corpúsculos con las fibras conductrices del nervio óptico.

Terminaciones nerviosas en el órgano del gusto. El revestimiento epitelial del repliegue circular de las papilas caliciformes, así como

el epitelio de los surcos de las papilas foliadas del conejo, etc., presentan unos acúmulos de elementos epiteliales alargados, dispuestos en una figura que se ha comparado á un tonel, y algunos autores denominan *botón gustativo* (fig. 173, C). Estos toneles están formados en su periferia por una ó más hileras de células fusiformes (células de *sostén),* tan largas como el acúmulo que limitan; y en su centro por elementos mucho más delgados (células *bipolares),* con un cuerpo engruesado por el núcleo y dos expansiones: la una, dirigida hacia el dermis y sumamente delgada, y la otra, algo más gruesa prolongada hasta la superficie de la mucosa, donde emerge bajo la forma de finísima pestaña (fig. 173, D). Para dar paso á estas pestañas, que forman un haz brillante y rígido, las células córneas superficiales del estrato epitelial reservan un agujero; de suerte que las partículas sápidas pueden tocar directamente los extremos de las células bipolares. Los filamentos nerviosos suben en haces hasta el extremo profundo de los bastones gustativos, penetran, reducidos á tenues y varicosos hilos, entre los cabos profundos de las células bipolares y rematan entre ellas por extremidades libres, como Arstein ha probado recientemente, y nosotros hemos tenido ocasión de confirmar.

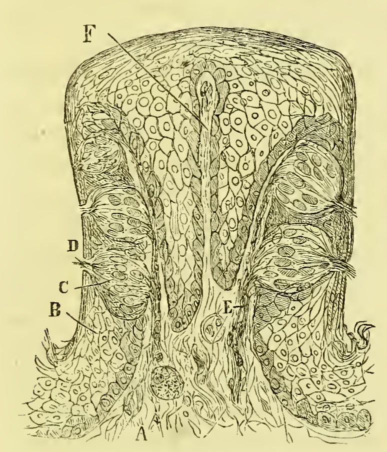


FIG. 173.—Corte de una papila foliada del conejo.—Ácido ósmico y carmín. A, dermis de la papila; B, epidermis córneo; C, botón gustativo; D, abertura por donde emerge el mechón de pestañas de las células bipolares; E, nervio que asciende hasta los órganos gustativos; F, papila central.

Terminaciones nerviosas en la mucosa olfatoria. Las fibras del nervio olfatorio carecen de mielina, y se esparcen solamente en la mitad superior de las fosas nasales. La mucosa presenta un revestimiento epitelial, de color amarillento, pulposo y bastante espeso. Las células que lo forman son de tres especies: células de *sostén,* células *bipolares,* y células *basales* (fig. 174). Las de sostén (figu-

ra 174, B), son larguísimas, poseen un cuerpo algo abultado por el núcleo, que se prolonga hasta la superficie de la mucosa sin presentar chapa ni pestañas vibrátiles, y una expansión profunda, desigual, con crestas de impresión para adaptarse á los intersticios próximos y terminada por un cabo granuloso á menudo ramificado. Las células bipolares (fig. 174, A), son mucho más delgadas é igualmente largas: su cuerpo es esferoidal, y puede decirse que está casi enteramente formado del núcleo; de sus dos expansiones, la superficial termina por delgada chapa que sostiene varias pestañas muy largas y no vibrátiles, y la profunda, finísima y varicosa, remata en el dermis mucoso por ligero ensanchamiento ó simplemente por un cabo libre y delicado. Las células basales (fig. 174, C) son esferoidales, pequeñas y cortas, y yacen entre las expansiones profundas de los corpúsculos mencionados, rellenando los huecos. La delgada capa de protoplasma que rodea estos elementos emite á menudo expansiones laterales cortas que prestan á los mismos aspecto estrellado ó fusiforme. Finalmente, la mucosa está atravesada de trecho en trecho por los conductos excretores de ciertas glándulas tubulosas simples (glándulas de Bowman). Las fibras nerviosas, que están asociadas en gruesos haces, se ramifican repetidamente en el dermis, y reducidas á fibrillas varicosas, delgadísimas é independientes, penetran entre los pies de las células epiteliales, terminando con toda probabilidad por extremos libres, apoyados sobre las células bipolares, sin que se pueda percibir con claridad continuidad sustancial entre éstas y las últimas raicillas nerviosas, contra la opinión de ciertos autores que afirman semejante continuidad.

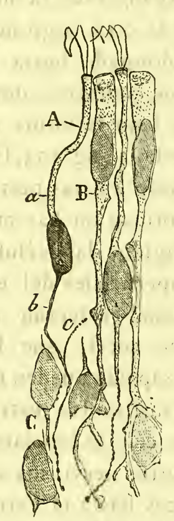


Fig. 174.—Células de la región olfatoria de la rana.—Disociación, previa acción del alcohol al tercio y ácido ósmico. A, célula bipolar que presenta en *a* su expansión externa y en *b* la interna; B, célula de sostenimiento; C, células basales.

Terminaciones nerviosas en el oído interno. La parte fundamental del caracol membranoso es el órgano de Corti, punto donde se ve-

rifica la impresión de las ondas sonoras y de cuya estructura, en extremo compleja, no señalaremos aquí más que los datos esenciales (1).

Sobre la membrana basilar yace una bóveda ó túnel prismático, de curso espiral, construído de dos hileras de pilares que, por su posición respecto del eje del caracol, se distinguen en internos y externos. Dichos pilares son células epiteliales diferenciadas en una materia dura, homogénea y elástica, excepto cerca de sus extremos inferiores, donde conservan todavía el núcleo y un resto del antiguo protoplasma. Insértanse por abajo sobre la membrana basilar, á cierta distancia unos de otros y reúnense por arriba, ofreciendo el extremo superior de los internos una cavidad donde se aloja la cabeza de los externos. Por fuera de estos últimos, se halla una formación epitelial cuya altura va disminuyendo sucesivamente conforme se aleja del túnel de Corti. Esta capa epitelial se compone de dos clases de células: 1.ª, las de *Deiters,* muy alargadas, provistas de un extremo inferior grueso, implantado en la membrana basilar, y de otro más delgado, dirigido hacia arriba y terminado en la superficie epitelial; y las *pestañosas* ó corpúsculos *acústicos,* distribuídos en tres ó cuatro series alternas con los elementos anteriores, y que se distinguen por ofrecer un cuerpo grueso, terminado hacia arriba por un mechón de pestañas y hacia abajo por finísimo hilo penetrante entre las células de Deiters. Por dentro del pilar interno existe otro revestimiento epitelial menos extenso, que consta de: una hilera de células pestañosas análogas á las anteriores; y varias filas deelementos no pestañosos (células de *sostén),* cuya altura va decreciendo por dentro hasta igualar á la de los corpúsculos aplastados del surco espiral interno. Los nervios arrancan del ganglio espiral, y marchan por entre las dos hojas de la lámina espiral ósea, llevando una dirección irradiada y se disponen en haces muy juntos y frecuentemente anastomosados. Al atravesar los tubos nerviosos el labio timpánico de la *cresta espiral,* pierden la mielina, reduciéndose á cilindros-ejes varicosos y ricamente ramificados. La

(1) Véanse los tratados de Anatomía de Henle, Sappey, Krause, etc., y especialmente el reciente libro de Schwalbe: Lehrbuch der Anatomie der Sinnesorgane. Erlangen, 1887.

marcha ulterior de estas fibras es dificilísima de seguir, explicándose perfectamente las divergencias de los autores sobre este punto. Lo que se puede dar por seguro es que las hebras amedulares se dividen en dos series: las internas que penetran entre los extremos inferiores de los elementos ciliados internos, con los que se conexionan de un modo desconocido; y las externas que, pasando por entre los pilares internos, cruzan el túnel de Corti, y abordan las células ciliadas externas, donde verosímilmente se terminan. Por esta razón se llaman las células ciliadas ó en bastón, *elementos acústicos*, considerándoselas como la representación de los bastones y conos de la retina y células bipolares olfatorias. A la verdad, las conexiones expuestas no son más que probables. Gottstein, Tafani y Waldeyer afirman la unión de las fibrillas nerviosas con el protoplasma de las células ciliadas, mientras que Retzius, que ha descrito un curso muy complicado en los haces de fibras pálidas (cordón del túnel, espiral externo, etc.), hace algunas reservas sobre el particular, de que también participa Schwalbe. La cuestión es dificilísima y exige nuevas observaciones.

La misma incertidumbre reina relativamente al modo de terminación de los filetes nerviosos en el vestíbulo membranoso, sobre la *mácula* y *crestas* acústicas. La *mácula acústica* es una parte engruesada de la mucosa del utrículo, y está construída de las dos siguientes especies celulares: 1.º, *células de sostén,* delgadas y largas, que ofrecen un cuerpo engruesado por el núcleo, un extremo superior ligeramente ensanchado, pero sin pestañas ni placa, y otro inferior ramificado é irregular; 2.º, *células ciliadas* ó *acústicas* más gruesas y granulosas que las anteriores, terminadas superficialmente por una chapa guarnecida de pestañas, y acabadas por abajo por un extremo espeso y redondeado, que no suele pasar de la mitad de la altura de los elementos de sostén. En el cabo interior de las células ciliadas es donde se supone que terminan las fibrillas nerviosas. Una disposición semejante ha sido señalada en las crestas acústicas de las ampollas de los conductos semicirculares.

Asociación de las células en los centros nerviosos. Los centros nerviosos están formados por la asociación de dos masas orgánicas de propiedades diversas: la *sustancia blanca* y la *sustancia gris.*

La *sustancia blanca* resulta dela reunión y entrecruzamiento de multitud de tubos nerviosos, de espesor variable, de aspecto varicoso, en los que no pueden observarse ni vaina de Schwan, ni núcleos, ni estrangulaciones anulares. Tampoco se observan las cisuras de Lantermann, ni las rayas de Fromman, exceptuando las fibras radiculares y las de los cordones de la médula, en donde estas disposiciones aparecen con bastante claridad. Los tubos nerviosos están separados y ligados en masa continua por los filamentos larguísimos y flexuosos de las células neuróglicas. Muchas de éstas siguen el curso de los capilares, en cuya túnica apoyan el cuerpo ó muchas de sus prolongaciones.

La *sustancia gris* está esencialmente formada de células nerviosas ramificadas, cuyo número, tamaño y configuración, son variables en las distintas provincias de los centros. Los espacios que quedan entre las células, se llenan por las expansiones ramificadas protoplasmáticas de éstas y por infinito número de filamentos de Deiters, y sus ramitas secundarias. En algunos parajes se asocian también los hilos de células neuróglicas, que son más cortos y enmarañados que los de los corpúsculos análogos de la sustancia blanca. Añadamos aún la existencia de una materia amorfa semilíquida escasísima, representación del cemento de los epitelios, y la presencia de redes capilares muy ricas y de mallas poligonales.

Los centros de sustancia gris, cuya disposición estructural ofrece caracteres especiales bastante conocidos, son: las circunvoluciones cerebrales, las cerebelosas, la médula y los ganglios nerviosos.

a.—*Circunvoluciones cerebrales.* Cada una de ellas está formada de una corteza gris y una lámina blanca central continua con la sustancia blanca de la médula y del cuerpo calloso. La corteza gris, vista al microscopio, presenta numerosas células arregladas en estratos irregulares y no bien deslindados. Esta irregularidad explica las divergencias que respecto del número de capas ofrecen los autores. Así, Meinert y Hugenin, admiten cinco capas: 1.ª, estrato de las *pequeñas células diseminadas;* 2.ª, el de las *células piramidales pequeñas;* 3.ª, el de las *grandes células piramidales* (capa *ammónica);* 4.ª, el de las *pequeñas células irregulares;* 5.ª, el de los *corpúsculos fusiformes* (formación del *claustrum).* Los elementos de la tercera

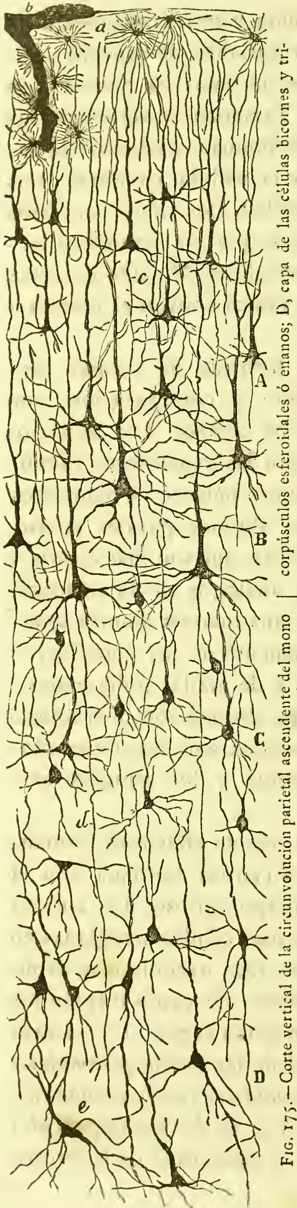


FIG. 175.—Corte vertical de la circunvolución parietal ascendente del mono (*cercopithecus*).—Impregnación por el proceder de Golgi. A, capa de las células cónicas pequeñas; B, capa de las células gigantes; C, capa de los corpúsculos esferoidales ó enanos; D, capa de las células bicornes y tricornes: *a*, capa neuróglica; *b*, capilar rodeada de corpúsculos neuróglicos; *c*, cilindro-eje de una célula superficial; *d*, el de una gigante.

capa se consideran de naturaleza motriz y sensitivos los de la cuarta, fundándose en el hecho de que en la médula las grandes células (astas anteriores) son motrices, y las pequeñas (astas posteriores) son sensitivas. Golgi divide la corteza cerebral en tres tercios (superficial, medio y profundo), apoyándose en la consideración de que no existe una estratificación celular propiamente dicha, ni las células de cada capa presentan caracteres específicos constantes. A pesar de la exactitud de estos reparos, no cabe negar que la mayor parte de los corpúsculos que habitan en un mismo plano de las circunvoluciones, poseen una forma y un tamaño bastante similar, lo suficiente para autorizar una ordenación por estratos. Los que nosotros admitimos son, desde la superficie al centro: 1.º, capa *neuróglica;* 2.º, capa de las *células cónicas pequeñas* (abusivamente llamadas piramidales); 3.º, capa de los *corpúsculos cónicos gigantes;* 4.º, capa de los *glóbulos* ó *células enanas esferoidales;* 5.º, capa de las *células bicornes* y *tricornes.*

1.º *Capa neuróglica.* Está constituida de células neuróglicas subyacentes á la *pia mater,* é íntimamente enlazadas á los vasos, á los que siguen muchas veces en su trayecto descendente hasta la ca-

pa inmediata. Los hilos emanados de estas células son finísimos, largos y divergentes, penetrando hondamente entre las pequeñas células cónicas. Por debajo de la capa neuróglica y en su mismo espesor, hállanse también las numerosas ramificaciones protoplasmáticas, casi paralelas y verticales, emanadas de la expansión externa de los corpúsculos cónicos de las zonas próximas (véase la fig. 175, a).

2.º *Capa de las células cónicas pequeñas.* Estos corpúsculos son numerosísimos, de forma cónica, con la base dirigida hacia abajo; su diámetro transversal oscila entre 9 y 13. Las prolongaciones de estas células son: una externa, varias laterales y la basilar. La externa, muy gruesa, emana del vértice del cono, y se prolonga después de varias dicotomías en ángulo agudo, hasta la capa superficial. Las laterales son numerosas, arrancan de ordinario del contorno de la base y sufren rápidamente reiteradas ramificaciones. La basilar es delgada, de contorno puro, y representa el cilindro-eje ó prolongación nerviosa celular (véase la fig. 175, A). Esta fibra marcha de ordinario verticalmente hasta la sustancia blanca, conservando su individualidad, á pesar de las numerosas ramitas laterales que suministra. Entre estas últimas, las hay que siguen un trayecto ascendente y se descomponen en finísimos hilos, que terminan probablemente en la superficie cerebral.

3.º *Capa de las células cónicas gigantescas.* Son mucho menos numerosas que las anteriores, con las que se enlazan por formas intermediarias. Caracterízanse estos corpúsculos por su gran tamaño (su diámetro transversal oscila en el hombre entre 18 y 24 μ), y por la robustez y extremada longitud de la expansión externa. El cilindro-eje se comporta lo mismo que el de las células de la zona anterior, sólo que es mucho más recio (fig. 175, E).

4.º *Capa de las células esferoidales.* Falta con frecuencia, ó al menos se presenta con tal irregularidad que podría suprimírsela. No obstante, es muy constante en el cerebro del mono y en las circunvoluciones occipitales del hombre, donde forma á menudo un estrato grueso y bien demarcado. Los corpúsculos de tal estrato son pequeños (de 7 á 11 μ), redondeados y están provistos de delgadas y cortas expansiones. Muchos de ellos carecen de la perfecta orientación de las células cónicas; no obstante, se encuentran algunos que

poseen también una expansión externa gruesa, varias prolongaciones laterales delgadas y un filamento basilar tenuísimo, que marcha hacia la sustancia blanca y posee todos los caracteres de un cilindro-eje (fig. 175, C).

5.º *Capa de las células bipolares y tripolares.* Estos corpúsculos son más gruesos que los anteriores, alcanzando un diámetro de



Fig. 176.—Corte de una lámina cerebelosa del hombre.—Impregnación por el proceder de Golgi. A, capa molecular; B, capa granulosa; C, capa de sustancia blanca. *a,* célula de Purkinje; *b,* cilindro-eje de esta célula; *c,* rama lateral del mismo; *d,* células neuróglicas de la capa granulosa; *e,* corpúsculo neuróglico de la capa molecular; *f,* células estrelladas pequeñas; *g,* corpúsculos neuróglicos de la sustancia blanca. (Para evitar confusión no se han dibujado en esta figura las ramas de las células estrelladas de la capa molecular ni los elementos estrellados de la zona granulosa).

12 á 15 μ. Su forma es varia é irregular; pero por lo común es fusiforme ó triangular (fig. 175, D, e). Las células fusiformes poseen dos gruesas y opuestas expansiones protoplasmáticas: una comúnmente dirigida hacia afuera; y otra hacia adentro, y penetrante en la sustancia blanca. La orientación de las gruesas expansiones de las tricornes es más inconstante, pudiendo solamente

decirse que casi siempre una de ellas es descendente. El cilindro-eje es finísimo y difícil de seguir; emerge comúnmente del lado del cuerpo celular, sigue un curso flexuoso hacia la sustancia blanca y pierde su individualidad, dicotomizándose repetidas veces. De todos los corpúsculos cerebrales, éstos son los únicos que parecen poseer los caracteres anatómicos asignados por Golgi á las células sensitivas; los demás tendrían significación motriz, exceptuando los elementos esferoidales, cuya naturaleza no es fácil determinar, por no ser bien conocido el trayecto y propiedades de su cilindro-eje.

La textura de las circunvoluciones varía algo en los diferentes departamentos del encéfalo; pero estas variaciones no están suficientemente estudiadas. En general, puede afirmarse que las circunvoluciones de los diversos lóbulos cerebrales poseen la misma textura fundamental, y que la diversidad funcional de las mismas parece depender exclusivamente de las fibras nerviosas con que se conexionan. Las modificaciones que se observan en algunas circunvoluciones por comparación con las demás, así como los cambios que presentan las del cerebro del mono, perro, etc., con relación á las del hombre, afectan solamente al espesor de las capas y al tamaño de las células. La forma de éstas y el orden de estratificación permanecen constantes.

La sustancia gris de la parte saliente de las circunvoluciones es más espesa y más rica en células que la correspondiente á las anfractuosidades. La región más honda de éstas se caracteriza por presentar células más cortas y escasas en la zona superficial, por el gran espesor y flexuosidad de la expansión externa de las células gigantes, por la orientación arqueada de las prolongaciones laterales de estos corpúsculos, que parecen seguir la curva de la anfractuosidad, y porque casi todos los elementos bicornes y tricornes se disponen transversalmente y de un modo concéntrico á la superficie cóncava de la sustancia gris, yaciendo estirados y comprimidos contra la sustancia blanca. Tales modificaciones parecen depender de los estiramientos que esta porción de la anfractuosidad sufre durante el desarrollo de las circunvoluciones.

b.—*Cerebelo.* Las circunvoluciones cerebelosas muestran tres capas sucesivas: 1.ª, *Capa ó zona molecular.* 2.ª, *Capa granulosa.* 3.ª, *Capa de fibras nerviosas.* Las dos primeras corresponden á la corteza gris de las circunvoluciones, y la última á la lámina blanca que forma el eje de las mismas.

1.ª *Zona molecular.* Es la más gruesa de todas y está formada

por tres clases de células: las gigantes ó de Purkinje, las estrelladas pequeñas y las neuróglicas. Las de Purkinje son elementos de gran talla (24 á 26 μ de latitud por 32 á 36 de longitud), de forma de pera, que yacen en el límite interior de la capa molecular. Por su extremo inferior ó grueso (fig. 176, a) emiten la prolongación nerviosa que, á pesar de sus ramificaciones, conserva su individualidad, atravesando la capa granulosa y continuándose con una fibra nerviosa de la sustancia blanca; y por el cabo superior suministran dos ó más tallos que ascienden por el espesor de la capa molecular, dicotomizándose y dando lugar, á favor de infinitas ramificaciones secundarias y terciarias, á una riquísima y apretada arborización, terminada por cabos libres en la misma superficie del cerebelo. Estas ramitas están erizadas de pequeñas asperezas ó dentellones que recuerdan los de los prismas centrales del cristalino (fig. 176, B).

Las células estrelladas son pequeñas (de 12 á 14 μ de diámetro) y yacen acá y allá esparcidas por todo el espesor del estrato molecular. Lo verdaderamente característico de tales elementos es la prolongación nerviosa que, naciendo ya del cuerpo celular, ya de una de sus expansiones, recorre casi horizontalmente gran trecho de la zona molecular, arqueándose y perdiéndose al nivel de las células de Purkinje. De la concavidad de la ancha arcada trazada por esta fibra descienden verticalmente ramitas secundarias que, llegadas al límite inferior de la capa molecular, rematan al parecer en unas como borlas ó flecos situados entre los corpúsculos piriformes, á los que forman un lecho de ramitas varicosas y gruesas. En los mamíferos las ramas descendentes y los flecos terminales son poco numerosos; pero en las aves alcanzan tal abundancia, que constituyen una verdadera zona entre los límites de la capa molecular y granulosa (zona de los *flecos descendentes).*



Fig. 177.—Dos células enanas de la capa granulosa del cerebelo del pollo. A, cilindro-eje que asciende hasta la zona molecular donde se bifurca.

Las células *neuróglicas* yacen al mismo nivel que las de Purkinje; son pequeñas, globulosas, más ó menos prolongadas, no presentan de ordinario expansiones hacia abajo, pero hacia arriba en-

vían una ó dos fibras que, después de atravesar verticalmente la capa molecular, sufriendo pocas ó ningunas ramificaciones, terminan junto á la superficie cerebelosa (fig. 176, e).

2.ª *Zona granulosa.* Contiene tres especies celulares: corpúsculos enanos ó células globulosas; elementos estrellados grandes y corpúsculos neuróglicos.

Los corpúsculos *enanos* pueden considerarse como los elementos nerviosos más diminutos, pues que su diámetro oscila entre 7 y 10 μ, y se los halla en grandísimo número en todo el espesor de la capa granulosa. De su periferia arrancan varias expansiones protoplasmáticas finas terminadas aparentemente en una masa granulosa, pero en realidad por una arborización corta, recia y varicosa, que recuerda la de las placas de Rouget de los músculos estriados. El filamento nervioso es tenuísimo, marcha en dirección periférica, atraviesa la capa molecular y, á nivel variable para cada hebra, acaba insertándose en ángulo recto en un filamento delicado, varicoso, de curso longitudinal y perfectamente paralelo á la dirección de la circunvolución cerebelosa. Estas nuevas fibras (paralelas ó longitudinales) no se ramifican ni anastomosan en su curso, y rematan por extremos libres, aun cuando esto no puede afirmarse con certidumbre, pues pudiera suceder que la reacción negra que las revela no se produjera sino en una parte de su trayecto. Las citadas fibrillas llenan toda la capa molecular del cerebelo, ocupando todos los huecos, y conservando siempre la misma posición y dirección originarias. Ulteriores observaciones realizadas por nosotros en el cerebelo de las aves y mamíferos, prueban que todas las fibras de la capa molecular poseen una orientación determinada é invariable. Así, mientras la hebra rectilínea en que remata el *cilinder* del grano ofrece una dirección longitudinal, los cilindros ejes de los corpúsculos estrellados de la zona molecular, la poseen transversal ó perpendicular al sentido de las circunvoluciones (fibras transversales). Añadamos aún que la arborización plotoplasmática de las células de Purkinje es aplanada, y la lámina que representan está orientada en el mismo sentido que las hebras transversales.

Las células *estelares* son escasas, de cuerpo robusto y de expansiones protoplasmáticas flexuosas y divergentes. El filamento nervioso emerge comúnmente de la parte inferior de la célula, se

dirige hacia abajo y pierde su individualidad, dividiéndose y subdividiéndose en infinitas ramitas laterales. Muchas de éstas, de curso flexuoso, acaban por arborizaciones arciformes y varicosas, que recuerdan la del pie de los elementos bipolares de la retina. Es imposible afirmar si algunas ramitas se continúan con las fibras de la sustancia blanca.

Las *células neuróglicas* son estrelladas y semejantes á las de la sustancia gris del cerebro y médula.

3.ª *Capa de fibras nerviosas ó de sustancia blanca.* Constituye la parte axial de las circunvoluciones cerebelosas, y en ella se encuentran grandes células neuróglicas y numerosas fibras medulares. Al penetrar éstas en la zona granulosa divergen hacia la capa molecular y se conexionan con las células de un modo que sólo es conocido para las que abordan los corpúsculos de Purkinje.

No todas las fibras que cruzan la capa granulosa poseen aspecto semejante; unas son gruesas, abundantemente ramificadas, poseen de trecho en trecho ciertas excrecencias arboriformes y como musgosas y se pierden debajo de las células piriformes y flecos descendentes; las otras son menos abundantes, ofrecen un curso más regular, y, perdida la mielina, se terminan en las células de Purkinje.

Como se ve por lo expuesto, muchos problemas quedan por resolver respecto de la conexión de los elementos del cerebelo y del cerebro. En primer lugar, ignoramos de qué modo se relacionan las células de una misma ó de distintas capas de sustancia gris; pues el proceder de Golgi, que tiñe perfectamente las expansiones celulares, jamás nos revela anastomosis, ni directas, es decir, por intermedio de las expansiones protoplasmáticas, ni indirectas ó por ramificaciones de los cilindros ejes.

En la misma incertidumbre nos hallamos con relación al modo de enlace con los tubos nerviosos, de las ramitas emanadas de aquellas prolongaciones nerviosas que pierden su individualidad, y que Golgi considera de naturaleza sensitiva. Así, jamás hemos podido comprobar el tránsito hasta la sustancia blanca de una fibra cualquiera del *cilinder* de los elementos estrellados de la capa molecular, ni de los corpúsculos enanos de la granulosa. En cambio, los flecos descendentes de aquéllos cesan de un modo tan constante al nivel de los corpúsculos de Purkinje, y se aplican tan íntimamente al protoplasma de éstos, que no puede uno menos de preguntarse si en vez de por continuidad protoplasmática, ¿no podría transmitirse también la acción nerviosa por

contigüidad, es decir, por una suerte de fenómeno de inducción? Esta hipótesis tiene la ventaja de avenirse perfectamente con las exigencias fisiológicas, y de concordar con los resultados negativos que, bajo el punto de vista de las anastomosis, se obtienen con los métodos analíticos modernos.

Por lo demás, casi todos los autores aceptan aún la antigua opinión de Deiters. Este autor señala dos modos de origen de las fibras nerviosas de los centros: uno directo ó por simple continuación del *cilinder* (expansión de Deiters que se creía no ramificada), y otro indirecto ó por intermedio de una red delicadísima, construída por las anastomosis recíprocas de las prolongaciones protoplasmáticas de las células.

Todavía más singular es la creencia de Hadlich y Obersteiner con relación al origen de las fibras del cerebelo, pues sostienen que las expansiones protoplasmáticas de las células de Purkinje, después de llegar á lo alto de la zona molecular, se arquean y descienden para formar por convergencia en la zona de los granos verdaderos cilindros ejes.

Golgi (1) ha demostrado la falsedad de estas hipótesis, poniendo al abrigo de toda duda la terminación libre de las expansiones protoplasmáticas; pero en la explicación que nos da del origen de las fibras nerviosas, se le ve un tanto imbuído en los prejuicios de la tradición; pues si no admite redes *interprotoplasmáticas,* describe redes *interaxiles.* En efecto, este autor distingue las fibras en dos especies: 1.ª, fibras nerviosas que nacen por un *cilinder* que, aunque se ramifica, no pierde su individualidad; y 2.ª, fibras originadas por convergencia de una red difusa intercelular, formada, no por expansiones protoplasmáticas, sino por las anastomosis de las ramitas colaterales de los cilindros ejes de las células de la primera variedad (motoras); por los filamentos en que remata el *cilinder* de los corpúsculos de la segunda variedad (sensitiva); y por las ramitas terminales de las fibras nerviosas arribadas de la sustancia blanca. Las fibras de la primera especie se originan positivamente como afirma Golgi; pero el modo de origen de las de la segunda nos parece una pura hipótesis anatómica. Para aceptar esta interpretación fuera preciso demostrar *de visu* la existencia de alguna de las mallas de la red susodicha, y esto es lo que nosotros, en dos años de porfiadas y minuciosas investigaciones en las diversas provincias de los centros, no hemos logrado jamás (2).

En cambio hemos podido seguir muchas veces en el cerebro de pequeños vertebrados (aves, murciélago, ratón, etc.) hasta la misma sustancia blanca,

(1) Sulla fina Anat. degli organi centrali, etc. 1886.

(2) Véanse nuestras memorias: Estructura del cerebelo de las aves. Mayo de 1888 —Sobre las fibras nerviosas de la capa molecular del cerebelo. Agosto de 1888.—Estructura de la retina de las aves, íd. íd.—Revista trim. de Histología.

los filamentos laterales desprendidos de los cilindros ejes que no pierden su individualidad, lo que da gran verosimilitud á la hipótesis de que cada prolongación nerviosa motriz remata en un haz de fibras nerviosas libres y no anastomosadas.

Si los resultados obtenidos en el cerebelo y la retina pudierán generalizarse á todos los corpúsculos nerviosos, nosotros dividiríamos éstos en tres categorías: 1.ª, células cuyo *cilinder* se prolonga, sin ramificarse, con una sola fibra nerviosa (células de la capa ganglionar de la retina, del lóbulo eléctrico del torpedo); 2.ª, células cuyo *cilinder* se prolonga con varias fibras de la sustancia blanca (cónicas gigantes del cerebro, etc); 3.ª, células cuyo *cilinder* termina por arborizaciones libres y varicosas, quizás conexionadas por contacto con otros elementos ó con fibras de la sustancia blanca.

Respecto de la neuroglia, la discusión mantenida con tanto calor por Virchow, Kölliker, Henle, Schultze, Deiters, Ranvier, etc., puede considerarse terminada, gracias á la aplicación del método de coloración de Golgi. Toda la trama conectiva de los centros está representada por las células neuróglicas *(Gliazellen)* y sus filamentos. Las opiniones sostenidas hasta hoy sólo tienen un interés puramente histórico.

Virchow (1853) fué el primero que llamó la atención hacia esta parte de la estructura de los centros. Pensaba este autor que la neuroglia consistía en una sustancia blanda, amorfa ó granular, que encerraba corpúsculos pequeños y redondeados. Esta concepción fué atacada por Henle y más tarde por Schultze, que negó la existencia de la materia granulosa y admitió en su lugar finísima red de fibrillas conectivas. El primero que descubrió en la neuroglia los corpúsculos estrellados de filamentos larguísimos fué Deiters, valiéndose para ello de la disociación en el ácido crómico diluído. Golgi demostró después que toda la trama conectiva de los centros resultaba del entrecruzamiento de las referidas expansiones. Gierke (1) aceptó además de esta urdimbre de prolongaciones celulares un cemento intersticial. Ranvier (2), apoyándose sobre los resultados que proporciona la disociación por el alcohol al tercio, negó la continuidad de los filamentos neuróglicos con el protoplasma celular, el cual sería muchas veces atravesado por aquéllos, que se continuarían indefinidamente, formando un sistema conectivo independiente y análogo morfológicamente á las fibras nerviosas. Schwalbe (3) describe entre las células nerviosas tres cosas: un cemento análogo al interepitelial, blando durante la vida y coagulable por los indurantes (alcohol, bicromatos); células aplanadas de bor-

(1) Die Stutzsubstanz der centralen Nevensystems *Neur. Centralb.* no 16, 1883.

(2) De la neuroglie *(Trav. du Labor. du Coll. de France).* París, 1883.

(3) Lehrbuch der Neurologìe, Erlangen, 1881.

des festoneados, y una sustancia esponjosa resistente á la digestión é idéntica á la neurokeratina de Ewald y Kühne (1). Las recientes investigaciones de Weber (2) que tienden á demostrar que la neurokeratina de los centros nerviosos reside en la mielina solamente, y las de Golgi que prueban que las células de los centros son estelares y no aplanadas, dan por tierra con la hipótesis de Schwalbe.

c.—*Médula.* Cuando se examina al microscopio un corte de médula teñido al carmín, obsérvanse dos partes: una periférica, poco teñida y de apariencia de nervio partido de través (sustancia blanca); y otra central, de color rojo subido, sembrada de células nerviosas (sustancia gris).

La *sustancia blanca* revela claramente los tubos nerviosos y los corpúsculos neuróglicos. Los tubos son de diverso diámetro, alcanzando los mayores á 20 μ y no subiendo los más pequeños de 3. En el centro de cada sección de tubo aparece el *cilinder* teñido de rojo, y alrededor de éste un círculo claro, incoloro, representado por la mielina y la vaina de Mauthner. Las preparaciones maceradas en ácido ósmico ó líquido de Boberi tiñen perfectamente la mielina, distinguiéndola de la vaina de Mauthner y haciendo aparecer en ella, según la mayor ó menor rapidez con que ha obrado el reactivo, una estratificación concéntrica, como si hubiese sido descompuesta en laminillas tubulares. Como esta delaminación no la presentan las fibras periféricas bruscamente fijadas por el reactivo, es lógico suponer que deban su origen á un principio de alteración de las materias constituyentes de la mielina. El nitrato de plata, así como el líquido de Boberi, revelan en dichos tubos, cuando se examinan en cortes longitudinales, las estrangulaciones y discos de soldadura, las cisuras de Lantermann y las rayas de Frommann; en cambio no nos ha sido posible notar ni membrana de Schwann ni núcleos periféricos, contra la opinión de Ranvier, quien dice haberlos visto (V. fig. 178).

En torno de los tubos nerviosos y rellenando los huecos, se advierte en las preparaciones carminadas una ganga fibrilar teñida de

(1) Die Verdauung als histologische Methode y Ueber einen neuen Bestandtheil des Nervensystems. 1877.

(2) Etudes histochimiques sur les tubes nerveux à miéline, 1882. Paris. *(Trav. du Lab. du Coll. de France).*

rojo, y constituída por las células neuróglicas y sus expansiones filiformes. Pero estas últimas sólo aparecen clarísimamente en los cortes de médula tratados por el proceder de impregnación de Golgi. Obsérvase en tales preparados que toda la trama intertubular está formada por filamentos celulares de gran longitud, divergentes y entrecruzados (fig. 179, a).

La *sustancia gris* resulta de la mezcla y entrecruzamiento de cuatro elementos: las células nerviosas, los tubos, los corpúsculos neuróglicos y los epiteliales ó del epéndimo.

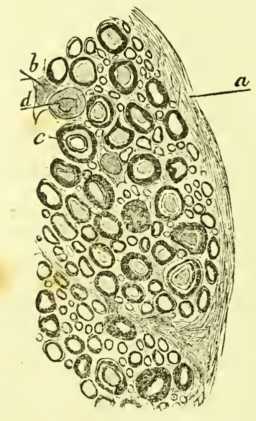


Fig. 178.—Corte transversal de un trozo de médula del perro fijada por el liquido de Boberi. *a*, cubierta conectiva; *b*, célula neuróglica; *c*, mielina formada de dos tubos concéntricos; *d*, sección de una estrangulación.

Las células nerviosas del asta anterior son comúnmente de gran talla (oscilan entre 30 y 80 μ de diámetro), de forma estrellada, con expansiones protoplasmáticas larguísimas que penetran frecuentemente por los tabiques de la sustancia blanca, llegando alguna vez hasta cerca de la superficie libre. La expansión nerviosa es más delgada y pálida; comienza por un abultamiento conoideo; dirígese por lo común hacia adelante, y, después de haberse recubierto de mielina, atraviesa la sustancia blanca, ingresando en la raíz anterior de los pares raquídeos.

En cuanto á los corpúsculos nerviosos del asta posterior, son mucho más pequeños y su forma presenta muchas variantes, siendo unas veces estelar y otras fusiforme ó triangular. De ordinario, la parte posterior de la sustancia de Rolando alberga corpúsculos alargados dispuestos concéntricamente al vértice del asta; mientras los que habitan en la base de ésta son estelares y poseen numerosas expansiones protoplasmáticas irradiadas hacia atrás y los lados, y de curso ondeado é irregular. No se conoce bien el curso y terminación del *cilinder* de dichos corpúsculos; lo que no cabe duda es que ofrece gran delgadez y se ramifica en hilos finísimos no anastomosados. Los autores que aseguran haber seguido estos cilindros ejes hasta las raíces posteriores, han sido

víctimas de una ilusión, pues el proceder de Golgi, único que permite teñir y presentar durante gran extensión tales expansiones, no consiente demostrar la conexión referida.

Los tubos nerviosos medulares son numerosos, entrecruzándose en todo el espesor de la sustancia gris y continuándose unas veces con las fibras radiculares y otras al parecer con las de la sustancia blanca. El ácido ósmico muestra estos tubos, de aspecto varicoso, pero sin estrangulaciones. El nitrato de plata no permite tampoco descubrir en ellos discos de soldadura ni estrías de Frommann, por lo cual se pueden considerar como formas más simples que las fibras medulares de la sustancia blanca.

Las células neuróglicas son abundantes, sobre todo en la sustancia gelatinosa de Rolando, más pequeñas que las de la corteza blanca y de expansiones numerosas, cortas y flexuosas. Muchas de éstas se insertan en los vasos, cuyo curso siguen; pero no forman, á causa de la cortedad de las expansiones, ese plexo intrincado propio de la trama de los cordones medulares.



Fig. 179.—Trozo de un corte transversal de la médula del perro teñida por el proceder de Golgi. *a*, célula de neuroglia; *b*, tubo nervioso.

Los *elementos del epéndimo* son prismáticos y forman una capa en torno del conducto medular. La extremidad externa de estos elementos se prolonga en uno ó varios filamentos que atraviesan parte de la sustancia gris, entrecruzándose entre sí y con las fibras nerviosas. En la médula de las aves y de los batracios es facilísimo ver, con ayuda del método de Golgi, que los tales filamentos terminan, después de atravesar toda la materia cortical, debajo de la piamater, comportándose de un modo que recuerda las fibras de Müller de la retina. En los mamíferos no hemos logrado comprobar esta disposición (1).

(1) Recientemente hemos comprobado esta misma disposición en el lóbulo óptico de las aves.

d.—*Ganglios nerviosos.* Son abultamientos ovoideos ó triangulares, de color grisáceo, de volumen variable, situados en el trayecto de muchos nervios, bien en la proximidad de su origen, bien cerca de su terminación. Distínguense los ganglios en *cerebro-espinales* y *simpáticos.*

Ganglios cerebro-espinales. Hállanse en el trayecto de las raíces posteriores de los nervios raquídeos y de los pares craneales sensitivos. Cuando se practica en un ganglio raquídeo una sección longitudinal, se advierten dos zonas: una cortical, grisácea y rica en corpúsculos nerviosos; y otra central formada principalmente de fibras medulares. En torno de la capa cortical existe una cubierta conectiva, fuerte, constituída por hojas superpuestas y continuada con el neurilema. De dicha cápsula parten expansiones fibrosas interiores que separan los elementos nerviosos y se prolongan con el tejido conectivo intrafascicular de los nervios aferentes.

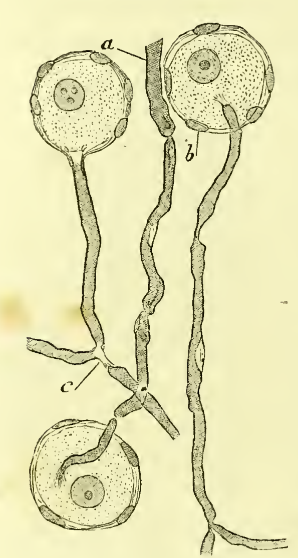


Fig. 180.—Células disociadas del ganglio de Gaserio del perro joven; *a*, tubo nervioso; *b*, cápsula con núcleos; *c*, división en T.

Las *células nerviosas* son voluminosas (de 20 á 50 milésimas), redondeadas ó ligeramente poliédricas. A primera vista todas ellas parecen apolares; pero si se las aisla en fresco, previa inyección intersticial de ácido ósmico, se echa de ver, como ha demostrado Ranvier, que en su mayor parte son unipolares. Esta única prolongación, á una distancia variable, se divide en T, es decir, origina dos fibras medulares de marcha casi siempre opuesta, y de las que, verosímilmente la una está destinada á distribuirse en la periferia, y la otra se continúa con una fibra central (fig. 180). Cada célula posee: 1.º, cubierta fibrosa gruesa, recubierta interiormente de endotelio, cuyos núcleos sobresalen hacia adentro; 2.º, protoplasma abundante, de aspecto reticular, cuya periferia aparece en las preparaciones fija-

das por el alcohol y bicromatos retraída y con fosetas; 3.º, uno ó dos acúmulos de gránulos melánicos, de color pardo ó amarillento y de posición comúnmente periférica; y 4.º, un núcleo redondeado y voluminoso que encierra una masa granulosa poco ó nada colorable por los reactivos del núcleo, y un nucleolo redondo brillante y fuertemente tingible por el carmín, las anilinas y la hematoxilina.

Los *tubos nerviosos* parecen idénticos á los de los nervios; la mayor parte marchan en gruesos haces longitudinales por el centro, aunque se los ve también entre las células orientados en todas direcciones.

Recientemente ha descrito Lenhossek en los elementos de los ganglios espinales de la rana una formación especial. Trátase de un disco homogéneo *(placa polar)* salpicado de núcleos, que está situado en el polo del protoplasma y es atravesado por el cilindro eje. Consta cada disco de dos ó tres células unidas y dispuestas en círculo en torno del arranque del *cilinder*.

Otra disposición singular ha sido señalada por Hans Daae en los ganglios espinales del caballo. La expansión nerviosa, en vez de emerger aisladamente, se forma por la convergencia de varias ramitas medulares nacidas en diversas partes del protoplasma. La convergencia tiene lugar en una estrangulación, y el tubo engendrado que se divide en T es mucho más grueso que las ramitas progenitoras.

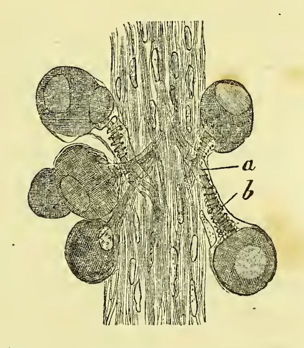


Fig. 181.—Pequeño ganglio situado en un nervio cardiaco de la rana.—Cloruro de oro.—Glicerina. *a*, fibra recta; *b*, fibrilla finísima y espiral. (La cápsula celular delgada presenta un núcleo).

Ganglios del gran simpático. Ofrecen la misma estructura fundamental que los espinales. Las células son más pequeñas y contienen casi siempre dos núcleos, disposición constante para el conejo y conejillo de Indias. De la periferia celular brotan varias expansiones que se ramifican en seguida, continuando verosímilmente cada ramo con una fibra de Remack. La cubierta de la célula se prolonga con esa capa protoplasmática sembrada de núcleos que recubre las citadas fibras.

Las células simpáticas de los batracios son piriformes (fig. 181) y bipolares. Contienen un solo núcleo situado en la porción más abultada, y emiten por su pedículo dos expansiones: una recta y gruesa colorable por el oro; y otra más fina é incolora, que, arrancando de un plano algo más periférico que la anterior, da vueltas en torno de ella, formando una espiral más ó menos cerrada. La cápsula celular, sumamente delgada, sólo encierra uno ó dos núcleos situados al nivel del arranque de las fibras, con cuya membrana ó cubierta conectiva se continúa.

Caracteres químicos del tejido nervioso. El análisis de los centros da una composición complejísima. Hanse hallado en la masa encefálica gran número de principios, como *albúmina*, *lecitina*, *protagon*, *colesterina*, *cerebrina*, *neurina*, *ácido glicerofosfórico*, *ácido palmítico* y *oleico;* y numerosas sales, *fosfato de potasa*, *fosfato de sosa*, *de cal*, *de hierro* y *de magnesia*, *cloruro de sodio*, *sulfato potásico*, á más del *ácido fosfórico libre*. La *cerebrina* y *colesterina* abundan especialmente en la sustancia blanca, y la *lecitina* en la gris. La proporción de *agua* contenida en los nervios se aprecia en un 78 á 80 por 100, descendiendo esta cifra á 64 ó 70 para la sustancia blanca. En la sustancia gris, la proporción centesimal alcanza al 84 ú 86 por 100 (Schlossberger).

A estas sustancias hay que agregar un nuevo producto: la *neurokeratina* de Ewald y Kühne, que presenta las reacciones de la materia córnea, y se obtiene sometiendo á la acción de la digestión artificial las masas nerviosas. Dichos autores localizaron la neurokeratina en la neuroglia, aproximando de esta suerte los corpúsculos conectivos de los centros á las demás formaciones ectodérmicas, una de las que, la piel, como es bien sabido, goza de la virtualidad de engendrar la keratina. Unger y Witkrowski sitúan la neurokeratina en la mielina, donde formaría una red más ó menos apretada de mallas poligonales. Waldstein y Weber han visto estas redes; pero no las consideran preexistentes, estimándolas como una precipitación determinada por los coagulantes. Golgi, Rezzonico y Mondino, atribuyen principalmente este producto á la fibrilla espiral, situada en el espesor de las cisuras de Lantermann. Nosotros nos inclinamos á la opinión de Waldstein y Weber, y nos fundamos en que la red varía mucho en forma y posición, según los agentes que

se emplean para fijar el tubo nervioso, y en la imposibilidad de discernir semejante retículo en la mielina viva, ni en la fijada por el ácido ósmico ó cloruro de oro. A más de la neurokeratina, contiene la mielina grasas neutras, que pueden disolverse por el alcohol hirviente, éter, bencina, cloroformo, etc., agentes que respetan el cilindro eje, y que, por tal circunstancia, son excelentes para ponerle en evidencia.

No se ha practicado todavía análisis detallado de las células nerviosas ni del *cilinder*. Se sabe que en el protoplasma existen albuminoides que se precipitan por los agentes indurantes, y que rara vez contiene grasa ni materia glucógena; pero esto es común á muchos elementos.

En cuanto á la membrana de Schwann, resiste como las fibras elásticas á los ácidos y álcalis; pero la digestión por la pancreatina acaba por disolverla.

Propiedades fisiológicas del tejido nervioso. Los corpúsculos nerviosos son células epiteliales que se han diferenciado en el curso del desarrollo para engendrar y transmitir las corrientes nerviosas. Se ignora todavía la naturaleza de estas corrientes, vacilando los sabios entre las hipótesis físicas (transmisión por ondulaciones, etcétera), y las hipótesis químicas (transmisión por descargas ó combustiones químicas); bien que estas últimas tienen en su apoyo el hecho bien comprobado de que la acción excitomotriz de un cordón nervioso, es tanto mayor cuanto más cerca de su origen se estimula (avalancha nerviosa). Pero si ignoramos la naturaleza del movimiento nervioso, sabemos que nada tiene que ver con el eléctrico. En efecto, la acción nerviosa, lejos de transmitirse con la velocidad de la electricidad, apenas marcha 20 ó 30 metros por segundo; fuera de que los nervios son malos conductores de la electricidad, y lejos de desprender este agente durante su función, disminuye en ellos la corriente eléctrica de reposo (oscilación negativa).

La parte verdaderamente encargada de la transmisión es el cilindro eje; las demás disposiciones de los tubos medulares llenan papeles más secundarios. Así, la mielina sirve verosímilmente de materia aisladora para evitar las filtraciones de la corriente. Cuando la acción nerviosa debe aplicarse sobre extensa superficie y como por difusión, falta la mielina, circunstancia que concurre en las termina-

ciones nerviosas medulares y en las fibras de Remack. La vaina de Schwann parece un aparato protector y contentor de la mielina; los discos de soldadura sirven para mantener el cilindro en su posición central y dar paso franco á las sustancias nutritivas. Las cisuras de Lantermann con las fibras de Rezzonico parecen desempeñar también este último papel, y quizás contribuyan á sostener la mielina y á mantener la permeabilidad de las cisuras.

El mecanismo esquemático de la funcionalidad nerviosa es lo que se ha llamado el *acto reflejo*. Una excitación sensitiva, que brota de la periferia á consecuencia de la colisión entre un agente exterior y un aparato sensitivo terminal, se transmite á una ó varias células sensitivas de los centros; de éstas la corriente pasa á los corpúsculos motrices, donde se refleja para marchar á lo largo de un nervio motor y terminar, bien en un músculo, bien en una glándula. Este diagrama sencillísimo hallaba apoyo estos últimos años en las supuestas anastomosis entre las células sensitivas y motoras; pero hoy, después de los trabajos de Golgi, el problema se complica, y distamos mucho todavía de poderlo plantear sobre una buena base anatómica.

La nutrición de los elementos nerviosos es muy activa, como lo prueba la apretada red vascular de la sustancia gris. Las materias, producto de la desnutrición celular, son absorbidas directamente por los capilares sanguíneos y no por aquellos pretendidos espacios perivasculares y aun pericelulares que algunos histólogos, tomando como cosa normal los efectos de los reactivos coagulantes, describían en los centros nerviosos.

La duración de las células nerviosas debe ser larguísima, pues jamás se descubren en los centros nerviosos de los adultos señales de kariokinesis, ni de destrucción celular. Quizás esta particularidad esté relacionada con la persistencia de los recuerdos y con la conservación, durante toda la vida, de la noción de nuestra personalidad.

El tamaño y disposición de las células nerviosas, así como de sus expansiones, no parece referirse de un modo bien evidente á determinada modalidad funcional. Los autores que consideran como motrices los elementos de gran tamaño y como sensitivos los de pequeña talla, establecen una hipótesis que no se aviene con el

hecho de la existencia, tanto en los ganglios raquídeos (aparatos sensitivos) como en las astas anteriores de la médula (partes motrices), de elementos pequeños y voluminosos mezclados en desorden. Y en cuanto á la suposición de Golgi, á saber, que deben reputarse motrices aquellas células cuya expansión nerviosa mantiene su individualidad hasta la sustancia blanca, nosotros recordaremos solamente que un órgano indudablemente sensitivo, la retina, posee en abundancia esta variedad celular, y aun podría añadirse que predomina sobre el tipo llamado sensitivo (células de la capa ganglionar, ciertos espongioblastos, etc.).

Desarrollo del tejido nervioso. Este tejido nace del ectodermo y su formación se inicia á las veinticuatro horas del desarrollo embrionario, bajo la forma de un surco rectilíneo, revestido por la hoja externa, y el cual, por sucesivos cambios, se transforma en conducto. La luz de este conducto representa el epéndimo medular, y la pared, construída de células epiteliales, la sustancia de la médula misma.

El epitelio, una vez invaginado, prolifera activamente, tornándose estratificado, y originando series celulares divergentes *(cadenas radiales de proliferación)*. Los elementos que limitan el epéndimo se alargan, conservando su aspecto epitelial y emiten hacia afuera expansiones divergentes; mientras que los situados periféricamente se transforman rápidamente, adquiriendo configuración estelar y emitiendo larguísimas expansiones.

El origen de los corpúsculos neuróglicos es punto muy controvertido. Eichhorst y Schwalbe sostienen que proceden de leucocitos transmigrados. Kölliker, Frey, Klein, etc., los consideran de naturaleza conectiva, opinión que en el fondo profesan His y Waldeyer cuando aseguran su procedencia parablástica.

Ranvier, Wignal y Golgi los estiman de origen epitelial ó ectodérmico, dictamen que nos parece con mucho preferible: 1.°, porque en ningún período de la evolución medular se sorprenden expansiones mesodérmicas penetrantes entre los corpúsculos nerviosos; y 2.°, porque las células neuróglicas adultas conservan el antiguo carácter epitelial, pues que se conexionan directamente entre sí y con las nerviosas, sin interposición de materia conjuntiva.

En cuanto á los vasos, es indudable que proceden del mesodermo, avanzando y penetrando entre los elementos nerviosos por puntas de crecimiento.

La aparición de la sustancia blanca en la médula es un fenómeno tardío que se anuncia por la formación en torno de la sustancia gris de un limbo fibroso y delgado. Proviene este limbo, según His, del crecimiento desmesurado y reunión en haces periféricos de muchos cilindros ejes de células nerviosas. Al principio carecen éstos de mielina; pero desde el tercer mes aparece ésta corriéndose á lo largo de los tubos, en el sentido de la transmisión nerviosa, y comenzando en la médula para terminar en el cerebro.

Respecto de las fibras de los nervios, hoy se puede dar como demostrado que resultan del estiramiento ó crecimiento centrífugo de las expansiones nerviosas de los corpúsculos centrales. Estas expansiones ingresan primero en las raíces nerviosas, crecen continuamente salvando todos los obstáculos, y se aplican por fin á las fibras musculares ó á los aparatos sensitivos. Durante este crecimiento, ciertos corpúsculos mesodérmicos se aplican á las fibras, estirándose á lo largo y envainando completamente el *cilinder*. En la cara interna de este estuche protoplasmático se deposita la mielina bajo la forma de gotas que crecen hasta formar los segmentos cilindro-cónicos. La membrana de Schwann se reconoce más tarde y resulta probablemente de una secreción de la cara interna del protoplasma. En ciertas fibras, tales como las de Remack, las partes nerviosas terminales, etc., la mielina no se deposita, conservándose indefinidamente el aspecto embrionario.

Preparación del tejido nervioso. a. *Tubos nerviosos*. Los tubos nerviosos medulares, así como las fibras de Remack, pueden demostrarse por el método de disociación y por el de los cortes.

La *disociación* cabe realizarse en fresco con ayuda de las agujas, operando rápidamente para que la preparación no se seque ni la mielina coagule. Pone de manifiesto este proceder las estrangulaciones de Ranvier, las cisuras de Schmidt ó de Lantermann y los núcleos de la vaina de Schwann. Pero los resultados serán mucho más demostrativos, si la disociación se ejecuta en haces nerviosos fijados á favor de una maceración de seis á doce horas en el ácido ósmico (1 por 100). Para conservar estas preparaciones sin que la mie-

lina se retraiga y arrugue al montarlas en glicerina, será conveniente tratarlas antes de la disociación con el alcohol absoluto.

El método de los *cortes* es utilísimo y especialmente aplicable á los nervios fijados por el ácido ósmico. Las secciones transversales, que deben ser muy finas (3 á 5 μ de espesor), mostrarán claramente la capa medular, el cilindro eje y la vaina de Mauthner. Dicho se está que para lograr tan finos cortes es de todo punto indispensable un buen microtomo y la inclusión previa en la parafina.

La demostración de las estrías de Fromann, así como del cemento de soldadura, exige la impregnación argéntica. A este fin, se disociará rápidamente un nervio vivo (el ciático de la rana por ejemplo), y antes que la preparación se deseque se la lubrificará durante dos ó tres minutos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La reducción argéntica se obtendrá á la luz solar bajo una gota de agua. Estas preparaciones no se conservan bien en glicerina ni en el bálsamo, á consecuencia de las impregnaciones secundarias que sobrevienen.

Para las cisuras de Lantermann, conviene especialmente el método de Boberi: maceración por seis á doce horas de un nervio vivo en una mezcla, á partes iguales, de ácido ósmico al 1 por 100 y de nitrato de plata en igual proporción. Una vez realizada la disociación y expuesto el preparado á la luz, aparecerán negras las cisuras de Lantermann y los discos de soldadura, y pardos ó grises los segmentos mielínicos.

b.—*Células nerviosas.* También caben aquí los dos métodos fundamentales de disociación y de los cortes.

La *disociación* puede realizarse en vivo en las células de los ganglios espinales de los peces (raya y torpedo por ejemplo), donde el tejido conectivo es blando y como gelatinoso. Pero casi siempre será ventajoso hacer proceder la disociación mecánica de una inyección intersticial de ácido ósmico, que fijará los elementos, y permitirá, después de actuar el alcohol y picrocarminato, conservar la preparación en glicerina. Este método es también aplicable á los ganglios espinales de los mamíferos; pero aquí es más difícil obtener células aisladas sin menoscabo de sus expansiones nerviosas. Con todo, tales dificultades se aminoran mucho practicando la disociación en animales jóvenes (conejo de uno á dos meses, por ejemplo).

En los centros nerviosos la disociación sólo se podrá conseguir de un modo satisfactorio utilizando el proceder siguiente: sumérjanse pequeños trozos de sustancia gris medular de buey en bicromato de potasa al 1 por 300 ó 500. Al cabo de tres ó cuatro días de maceración, se reducen aquellos á pequeños grumos mediante las agujas, y se les agita fuertemente en un tubo cerrado que contenga una solución de picrocarminato. En los *detritus* que en el

fondo del tubo se depositan se hallarán hermosas células nerviosas y neuróglicas perfectamente aisladas. El proceder al alcohol al tercio de Ranvier presta también á este fin buenos servicios.

Pero para formarse una idea de las conexiones de los corpúsculos nerviosos es indispensable el método de los *cortes*. Éstos se ejecutarán previo endurecimiento de los centros en bicromato de potasa ó en ácido crómico.

El método clásico de induración es el del bicromato, que lleva á todos los demás las ventajas de prestar al tejido nervioso una consistencia muy apropiada para la ejecución de cortes finos y de gran extensión, y la de permitir la coloración de éstos por casi todos los agentes tintóreos, pero especialmente por el carmín y la hematoxilina.

He aquí cómo debemos proceder: Comiénzase por sumergir trozos de centro nervioso en una solución de bicromato al 3 por 100; la solución será abundante con relación á las piezas y se renovará cada dos ó tres días en el transcurso de veinte ó treinta. En invierno será preciso elevar la dosis de bicromato y prolongar el tiempo de maceración hasta treinta ó cuarenta días; en verano bastan veinte ó veinticinco. Una vez sacadas las piezas de esta solución, se lavarán en agua destilada para arrastrar el exceso de bicromato y se sumergirán tres ó cuatro días en alcohol fuerte, que se renovará dos ó tres veces, hasta conseguir una completa deshidratación.

Nada más fácil ahora que ejecutar cortes finos (hasta de 1 centésima) al microtomo. Estos cortes se lavan en agua destilada y se abandonan por cuatro á seis horas en una solución de picrocarminato. Después se montan al bálsamo por los procederes corrientes.

En vez del bicromato sólo que nosotros usamos de preferencia, puede emplearse el líquido de Müller, y, si se pretende una rápida induración, el líquido de Erlicki. El método al ácido crómico indura bien; pero tiene el inconveniente de dificultar el teñido de los cortes. En cuanto al alcohol solo, rara vez presta á las piezas la consistencia necesaria.

La coloración al carmín produce espléndidas preparaciones, en que los cilindros ejes resaltan en rojo vivo, las células en rosa intenso, mientras que la mielina permanece incolora. La hematoxilina colora casi lo mismo, bajo el punto de vista de la selección por el *cilinder* y corpúsculos nerviosos.

Pero en estos últimos tiempos se han preconizado otros métodos de coloración, que completan y corrigen las enseñanzas del método al carmín, superándole bajo algunos puntos de vista; estos métodos son: el de Golgi, el de Weigert y el de las anilinas.

Proceder de Golgi (1). El teñido de Golgi, llamado de *coloración negra* de

(1) Sulla fina Anatomía degli organi centrali del sistema nervoso. Milano, 1886.

las células nerviosas, se logra sumergiendo, por treinta ó cuarenta horas, en una solución de nitrato de plata al 0,75 por 100, pequeñas piezas de los centros indurados convenientemente en bicromato de potasa ó líquido de Müller.

En el momento de la sumersión (no se deben lavar las piezas antes) se precipita en torno de la pieza cromato de plata rojo; pero subsiguientemente el cromato se deposita solamente en las células nerviosas y sus expansiones. Como este precipitado es opaco, aparece negro á la luz transmitida, y si los cortes se hacen transparentes por el bálsamo, las células nerviosas destacan admirablemente sobre fondo amarillento, pudiéndose seguir las expansiones nerviosas á grandísima distancia.

La induración de las piezas se realiza por uno de tres procederes: lento, rápido y semilento.

El *proceder lento* es el más sencillo. Consiste en macerar en bicromato de potasa al 3 ó 2 $^1/_2$ por 100, renovado cada dos ó tres días, pequeñas piezas de centros nerviosos frescos. Para apresurar la operación, cabe ir aumentando sucesivamente la dosis de bicromato hasta un 4 ó un 6 por 100. Es indispensable, antes de tentar la reacción en el nitrato de plata, conseguir un cierto grado de induración que sólo la experiencia puede determinar. Fuera de este grado (que se obtiene en invierno comúnmente de treinta á cincuenta días de inmersión en bicromato y en el verano de veinticinco á cuarenta), la reacción negra ó no se logra ó se produce tumultuosamente impregnando groseramente algunos vasos y células.

Método rápido. Comiénzase por mezclar cuatro partes de solución de bicromato al 3 por 100 y una de ácido ósmico al 1 por 100. Las piezas, que deben ser muy pequeñas (medio centímetro de lado á lo más para 15 centímetros cúbicos de líquido), se abandonarán en este licor por dos ó tres días, al cabo de los que se ensayará la reacción argéntica.

Método semilento. Las piezas frescas permanecerán primero durante tres á quince días en una solución de bicromato al 3 por 100 ó en el líquido de Müller; luego se maceran por tres días en la mezcla ósmico-bicrómica citada, y después se llevan al nitrato de plata.

El cromato de plata no se deposita sobre todos los elementos á la vez; si tal sucediera, la preparación sería indescifrable: la ventaja más preciosa del proceder de Golgi consiste en que la reacción sólo tiene lugar en un corto número de elementos, células neuróglicas, nerviosas ó vasos, con lo cual pueden verse con extraordinaria claridad las expansiones celulares, apareciendo la preparación tan neta como un esquema. No son idénticas las enseñanzas de los tres métodos citados de induración. Así, para citar un ejemplo: las fibrillas paralelas y los granos del cerebelo sólo se tiñen por el rápido; las fibras transversales y sus células por el semilento, mientras que las de Purkinje pa-

rece que se coloran con más frecuencia por el lento, aunque también se impregnan á menudo con el semilento. En general, los cilindros ejes se coloran mejor con el rápido y semilento que con el lento, el cual tiene propensión á teñir solamente las expansiones protoplasmáticas.

Obtenida la reacción en el nitrato de plata (bastan de ordinario treinta horas de sumersión en la solución argéntica) se deshidrata la pieza en alcohol fuerte y se la reduce á cortes que deberán ser algo gruesos, á fin de que puedan seguirse á gran distancia los cilindros ejes y demás expansiones celulares. Estos cortes se lavan inmediatamente y repetidamente en alcohol fuerte para arrastrar todo el nitrato de plata libre, se aclaran durante un momento por la creosota ó la esencia de clavo, y se sumergen en la esencia de trementina, donde serán trasladados á un cubre-objetos y lubrificados con una gota de solución de goma damar y colofonia en bencina. La preparación no debe encerrarse, como las ordinarias, entre dos cristales, sino que se debe dejar secar al descubierto. A fin de poder manejar la laminilla, será conveniente montarla en el agujero de una tableta ó cartón.

Proceder de Weigert (1). Las piezas de centros nerviosos induradas en líquido de Müller, en solución de bicromato simple ó en el líquido de Erlicki, se acabarán de endurecer en alcohol, y si no fuera suficiente, en celoidina. Los cortes (que deben ser muy delgados y no deben lavarse) se transportarán desde el alcohol á una solución de acetato de cobre (arreglada diluyendo en el doble de agua una solución saturada de esta sal), donde permanecerán de seis á doce horas. Después se abandonarán por algunas horas en una solución de hematoxilina (alcohol, 10; agua, 90; hematoxilina, 0,75 á 1) ligeramente alcalinizada por la adición de algunas gotas de una solución saturada de carbonato de litina.

Lavados los cortes, se sumergen por seis á diez horas en un líquido decolorante compuesto de: ferricianuro de potasio, 2, 5; bórax, 2; agua, 200. En este licor la sustancia gris se aclara paulatinamente, tomando un color amarillento pardo, mientras que la mielina permanece colorada en violeta intenso. Dichos cortes, convenientemente deshidratados y montados en bálsamo, permiten distinguir con admirable limpieza el curso de las fibras medulares de la sustancia blanca y gris de los centros. Bajo este aspecto, es el método de Weigert muy superior á todos los demás, incluso el del carmín.

Cabe también obtener buenos resultados con el método citado, suprimiendo el baño de acetato de cobre (método primitivo), y trasladando directamente los cortes desde el microtomo á la hematoxilina. En invierno convendrá mantener esta última á una temperatura de 30 á 35°; en el verano hemos obtenido sin este requisito excelentes preparaciones.

(1) *Fortschrit. d. Med.* 1884 y 1885.—*Zeit. f. wissench. Mik.* 1884 y 1885.

Procederes á las anilinas.—Son numerosísimas, pues, casi todas las anilinas aplicadas sobre cortes de centros nerviosos, según el método de Hermann-Bötcher, tiñen satisfactoriamente las células y los cilindros ejes.

Aquí señalaremos solamente el proceder de Sahli. Cortes de médula ó cerebro, indurados en bicromato y sobreendurecidos en alcohol, se abandonan por varias horas en una solución acuosa concentrada de azul de metilo; luego se sacan de este líquido y se someten por cinco minutos á la acción de una solución saturada de fuchina ácida; después se deshidratan rápidamente en alcohol fuerte (donde abandonan el exceso de color) y se aclaran en esencia de bergamota. Una vez montados al bálsamo, ofrecen, bajo la inspección microscópica, los cilindros ejes teñidos de azul, y la mielina de rojo. Desgraciadamente esta bella selección no se mantiene mucho tiempo, á causa de la decoloración que, bajo la acción luminosa, sufre la fuchina.

Los procederes descritos son también utilizables en los nervios y ganglios. El de Weigert, por ejemplo, suministra espléndidas preparaciones de los ganglios raquídeos. En cambio, el de Golgi es sólo aplicable al cerebro, cerebelo, médula y retina. En los ganglios y terminaciones nerviosas, así como en el lóbulo eléctrico del torpedo, nuestros ensayos han sido infructuosos.

Terminaciones nerviosas.—El cloruro de oro reducido por el ácido fórmico solo ó en combinación con la acción luminosa, es el agente revelador por excelencia de las extremidades nerviosas periféricas. Este método ha sido ya descrito (p. 84). Aquí sólo diremos, que, cuando se trate de las terminaciones en los músculos, el método más seguro es el de Loewit, ó el de Ranvier; mientras que las de la córnea, y casi todas las sensitivas, se tiñen mucho mejor por el de Cohnheim. No obstante, con el de Loewit hemos obtenido excelentes preparaciones de los corpúsculos de Pacini y Merkel del pico ó lengua del pato, así como del aparato terminal de los pelos tactiles.

En estos últimos tiempos, Ehrlich (1) ha ideado un método nuevo, preciosísimo para corregir y completar las imágenes que el oro proporciona. Me refiero á las inyecciones *intra vitan* del azul de metilo, las cuales tienen la virtud de teñir de azul el cilindro eje de casi todos los nervios y terminaciones. He aquí cómo procedemos nosotros: En un conejo ó gato, todavía palpitante, inyectamos por una carótida una solución casi saturada de azul de metilo. Al poco rato llevamos á un porta-objetos, groseramente disociado y recubierto en fresco con una laminilla, el objeto cuyas terminaciones inquirimos. Casi siempre, al cabo de algunos minutos, se diseñan los cilindros en azul intenso, notándose que las fibras terminales son varicosas como las que el oro nos revela. Cuando se trata de la córnea, la extirpamos entera y la observamos en masa;

(1) Ueber lie Methylenblaureaktion der lebenden Nervensubstanz. *Deutch. med. Wochencch.* n.º 4, 1886.

en ella, merced á su transparencia, se diseñan los nervios con esplendente claridad.

En la rana debe ejecutarse una inyección general, ó por una de las venas dorsales ó por los arcos aórticos. A veces es preferible lubrificar directamente con la solución metilada el órgano vivo cuyas terminaciones se investigan. Tal hemos hecho, y con excelentes resultados, en el pulmón, la retina y la vejiga de aquel animal. Podrán asimismo utilizarse las inyecciones intersticiales, proceder que da excelentes resultados en las terminaciones nerviosas del músculo pectoral cutáneo. En todo caso, antes de comenzar el examen debe transcurrir media ó una hora, pues no se trata de un teñido ordinario, sino de un fenómeno de asimilación que necesita cierto tiempo para realizarse.

Las preparaciones obtenidas por este método son hermosísimas; pero desgraciadamente la coloración se disipa al sobrevenir la muerte de los elementos. Algunos autores aconsejan, para conservar la coloración, el uso del picrocarminato *(Smirnow)*, ó del picrato amónico *(Dogiel)*. Hase propuesto con igual fin la solución yodo-yodurada (solución de yodo en yoduro de potasio) *(Arstein)*; pero estos agentes deforman los elementos, granulan y desnaturalizan el color, que á la larga concluye también por desaparecer.

Las terminaciones en el órgano eléctrico del torpedo no se tiñen ni por el cloruro de oro, ni por el azul de metilo. Los procederes más valiosos para su estudio son: el del nitrato de plata y el del ácido ósmico. El nitrato de plata se emplea lubrificando la superficie recién refrescada de los prismas con una solución al 1 por 300. Puesta la preparación al sol bajo una gota de agua, las laminillas impregnadas nos darán á conocer una arborización clara que resalta sobre un fondo negro.

El método al ácido ósmico consiste en practicar en el órgano eléctrico una inyección intersticial con este agente, en el cual se abandonarán por seis á doce horas pedazos de prismas. Lavados y fijados al alcohol se teñirán en masa ó con la fuchina ácida ó con la hematoxilina, y previa deshidratación se englobarán en parafina á fin de obtener finos cortes transversales de las láminas.

El método de la disociación es quizás el más demostrativo. Consiste en disociar con las agujas las laminillas de un trozo de prisma fijado por la acción continuada (seis á doce horas) del ácido ósmico al 1 por 100. Estas preparaciones, que deberán conservarse en glicerina, muestran las fibras medulares teñidas en negro fuerte, y de moreno oscuro las arborizaciones pálidas que resaltan netamente sobre la materia incolora de las láminas.

La retina se estudiará también por los procederes susodichos, pero con algunas variantes. La extraordinaria alterabilidad del órgano obliga á una rápida fijación, que se llevará á efecto con el ácido ósmico.

El líquido de Müller ó el de Kleimenberg, podrán utilizarse siempre que

no tengamos interés especial en conservar perfectamente los conos y bastones, partes las más vulnerables de la retina. Si se aplica el ácido ósmico, comenzaráse por cortar y limpiar de humor vítreo el segmento posterior de un ojo fresco; se le someterá después por tres ó cuatro horas á la acción de aquel reactivo; se le llevará al alcohol fuerte, y se terminará la operación tiñendo la retina en masa, bien por el carmín, bien por la hematoxilina, bien por la fuchina. Teñida y deshidratada la pieza, se separará la esclerótica y coroides (la gran dureza de estas partes podría mellar el microtomo), y se verificará la inclusión en parafina, á fin de ejecutar series de cortes finos, ya en sentido paralelo, ya en el transversal. La inclusión en celoidina es también muy útil; con ella tendremos la ventaja, no sólo de teñir los cortes aisladamente, sino de obtener á un tiempo la sección de casi todas las partes del ojo; córnea, cristalino, iris, retina, etc.

El proceder de la disociación completará nuestras enseñanzas sobre la retina. Pequeños trozos de ésta, previamente macerados en alcohol al $^1/_3$ ó en líquido de Müller, se desgarrarán con las agujas bajo una gota de picrocarminato, y se montarán en glicerina.

El método de Golgi es también aplicable á esta membrana; pero la reacción sólo se obtiene fácilmente en las retinas gruesas (aves y grandes mamíferos). Como único proceder indurante, usaremos el rápido (maceración de la retina por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas en la mezcla ósmico-bicrómica). Los cortes se ejecutarán al microtomo, deshidratada la retina y cogida entre dos trozos de médula de saúco.

CAPÍTULO XV

SISTEMAS DE TEJIDOS

De los sistemas de tejidos hemos dicho ya en otra ocasión que son tantos como variedades de órganos y que su estudio corresponde más que á la anatomía general á la anatomía descriptiva. Pero conformándonos con el sentir general y con la costumbre establecida, describiremos aquí sumariamente aquellos sistemas que los autores suelen contar entre los tejidos bajo la designación de *tejidos compuestos*.

SISTEMA GLANDULAR

1.—**Def.** Así se designa la trama de unos órganos, llamados glándulas, formada por la asociación de tres tejidos: el epitelial, el conectivo y el vascular. El primero, forma un revestimiento interior; el segundo, una trama de unión y soporte de los divertículos glandulares; el tercero, una red apretada de capilares, situada inmediatamente por fuera del epitelio.

2.—**Distribución y caracteres físicos.** Son las glándulas órganos huecos de color gris rosáceo, de consistencia semiblanda y forma más ó menos redondeada.

Lo que especialmente caracteriza á la glándula es la índole de su actividad, consistente en la elaboración ó filtración de ciertos productos que se vierten sobre las superficies libres del organismo.

La glándula no es en último análisis sino un repliegue membranoso, ecto ó entodérmico, construído en la época embrionaria por

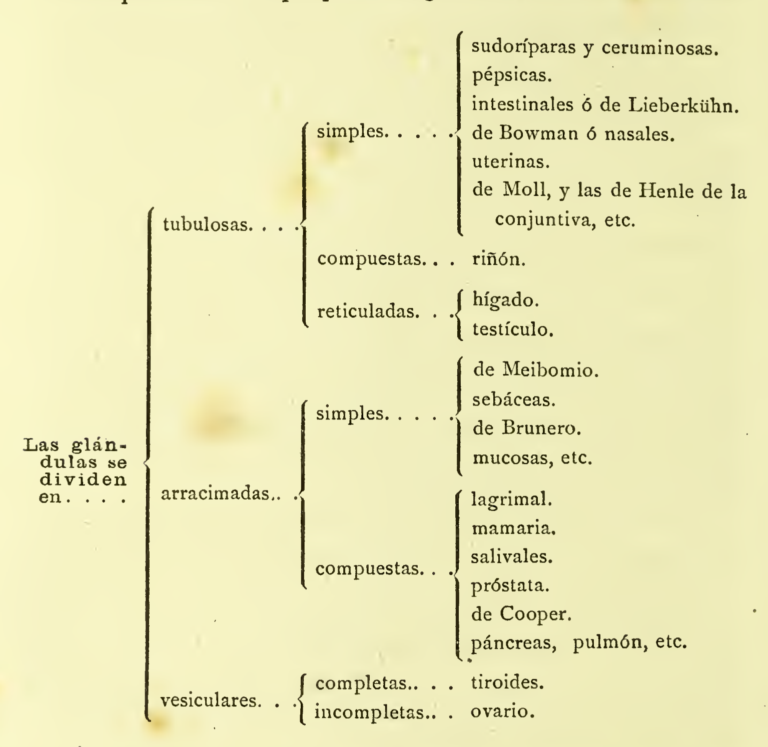
sucesiva y gradual invaginación. La forma de este repliegue varía notablemente en cada glándula, subordinándose á la naturaleza del acto secretor y del líquido segregado. La importancia de tal carácter morfológico ha movido á los autores á basar en él la clasificación de las glándulas, pues las otras consideraciones que pudieran aprovecharse al mismo fin (el líquido segregado, la función á que coadyuva, el origen embriogénico, etc.), son insuficientes é inaplicables.

Así las glándulas pueden agruparse en tres géneros principales: *tubulosas, arracimadas* y *vesiculares.* Las *tubulosas* son aquellas en que las tres partes fundamentales, membrana conectiva, epitelio y red vascular, se disponen en forma de tubo cerrado por un extremo ó de dedo de guante; las *arracimadas* son las que aparecen bajo el aspecto de divertículo más ó menos alargado y sostenido por un pedículo ó parte más estrecha; y las *vesiculares* las que constan de cavidades esferoidales no comunicantes ó sólo accidentalmente comunicantes con superficies libres.

El primer género consiente una subdivisión natural en tres especies, según la mayor ó menor complejidad de la construcción tubular: *tubulosas simples, compuestas* y *reticulares.* Las primeras constan de un solo tubo abierto individualmente en superficie libre; las segundas se forman de varios tubos convergentes en uno ó muchos *(conductos excretores);* y las terceras encierran conductos que antes de desaguar en los excretores ó excretor se anastomosan entre sí formando redes complicadas.

Las *arracimadas* se distinguen en *simples* ó de un solo racimo; y *compuestas* ó construídas de varios, convergentes á uno ó algunos tallos de desagüe *(conductos excretores).* Por último, las *vesiculares* se dividen en *completas,* cuando la cavidad se conserva siempre cerrada; é *incompletas,* cuando la vesícula puede romperse accidentalmente y verter su contenido en un conducto excretor.

He aquí un cuadro que presenta gráficamente la clasificación:



Las glándulas se dividen en. . . .	tubulosas. . . .	simples.	sudoríparas y ceruminosas.
			pépsicas.
			intestinales ó de Lieberkühn.
			de Bowman ó nasales.
			uterinas.
			de Moll, y las de Henle de la conjuntiva, etc.
		compuestas. . .	riñón.
		reticuladas. . .	hígado.
			testículo.
	arracimadas.. .	simples.	de Meibomio.
			sebáceas.
			de Brunero.
			mucosas, etc.
		compuestas. . .	lagrimal.
			mamaria.
			salivales.
			próstata.
			de Cooper.
			páncreas, pulmón, etc.
	vesiculares. . .	completas.. . .	tiroides.
		incompletas.. .	ovario.

3.—**Caracteres micrográficos.** Cada glándula contiene, como hemos dicho, un *epitelio*, una *membrana conectiva* y la trama *conectivo-vascular*. El *epitelio* forma generalmente una sola capa que limita la cavidad glandular y se continúa con la superficie libre de la mucosa ó piel donde se vierte el material segregado. Las células epiteliales son cortas, casi siempre cúbicas, sin membrana aparente y provistas de un protoplasma turbio, abundante, donde se albergan los primeros materiales de la secreción, visibles á veces bajo la forma de vacuolas. Este protoplasma es francamente reticulado, con mallas poligonales y apretadas. El núcleo es redondeado y yace comúnmente en un extremo celular. La *membrana glandular* ó basal es una película anhista, elástica, resistente, que

rodea la superficie externa de la capa epitelial, continuándose consigo misma en todo el espesor de la glándula, á cuyas cavidades presta su característica configuración. Aunque esta cutícula parece amorfa en muchas glándulas, en otras es evidente que está formada de fascículos conjuntivos muy finos y apretados. El *tejido conectivo* laxo rellena todos los huecos que median entre los tubuli ó acini glandulares, y contiene la red capilar y las extremidades nerviosas. La forma de la red vascular se subordina á la del hueco glandular: así, es tubuliforme en las cilíndricas, saculiforme ó piriforme en las acinosas y vesiculares. La red yace inmediatamente por fuera de la membrana, lo más cerca posible de las células. Lo tupido de la malla vascular guarda relación con la actividad funcional. El hígado y el pulmón, glándulas de función continua, la poseen apretadísima, y mucho más floja las glándulas salivales, cuya función es intermitente.

Con estos antecedentes pasemos ahora á describir sucintamente los tipos más importantes de cada especie glandular.

a.—*Arracimadas simples.* El tipo de éstas son las glándulas sebáceas. Yacen en el dermis cutáneo por fuera del folículo piloso, dentro de cuya cavidad vierten el líquido segregado. Cada folículo piloso posee comúnmente dos glándulas sebáceas, cuyo tamaño varía un tanto en las diversas especies de pelos.

El acini glandular consta de varios lóbulos ó granos alargados, sostenidos por pedículos anchos y confluentes en un conducto excretor más angosto y de gruesas paredes. Aquí, como en toda glándula, conviene distinguir la porción excretora de la secretora. La secretora ó fondo glandular consta de un revestimiento exterior hialino y de una formación epitelial gruesa, compuesta de cinco ó seis capas celulares superpuestas, que á menudo ciegan la cavidad de cada divertículo glandular. Examinando atentamente estas células se advierte que no son todas iguales; las de la primera capa, es decir, las que tocan á la membrana hialina, son aplanadas, poseen un protoplasma opaco y granuloso y se tiñen intensamente por el carmín; en tanto que las de las demás hileras son gruesas, poliédricas, claras, poco tingibles por el carmín y albergan multitud de gotas grasientas, tanto más abundantes cuanto más próximas se hallan aquéllas á la luz del acini. Obsérvase que el núcleo de los

elementos de la primera zona se tiñe bien por las anilinas, presentándose alguna vez en kariokinesis; mientras que el de las células grasientas apenas se tiñe, poseyendo escasos gránulos cromáticos. El producto de secreción resulta de la disgregación de los elementos grasientos más concéntricos, cuya grasa puesta en libertad se junta en masa coherente.

b.—*Glándulas arracimadas compuestas.* Describiremos como ejemplos las *glándulas salivales* (fig. 182).

Glándula salival. Cuando se practica un corte fino en la glándula submaxilar de cualquier mamífero, nótase que toda ella está construída de vesículas alargadas, convergentes en unos conductos estrechos, á su vez concurrentes en otros más gruesos, que son los excretores. Las vesículas carecen de membrana anhista, haciendo sus veces una capa intersticial de tejido conectivo laxo sumamente fino, portador de los capilares, y rico en células laminares y ramificadas. El epitelio es grueso, de una sola capa y llena casi toda la cavidad vesicular. En muchas partes de los cortes las células epiteliales revelan dos zonas: una periférica turbia y granulosa, donde se aloja el núcleo, y otra central ancha y transparente, limitante de la luz de la vesícula. Entre ambas existen comúnmente zonas de transición; pero en ocasiones la porción turbia y periférica aparece discontinua con la clara, originándose unas figuras semilunares *(semilunas* de Gianuzzi), que si la preparación se ha teñido á la hematoxilina, destacan limpiamente por su intensidad de color del resto de la formación epitelial. Heindenhain que vió esta disposición, pensó que se debe á la presencia de dos capas celulares: una joven y peri-

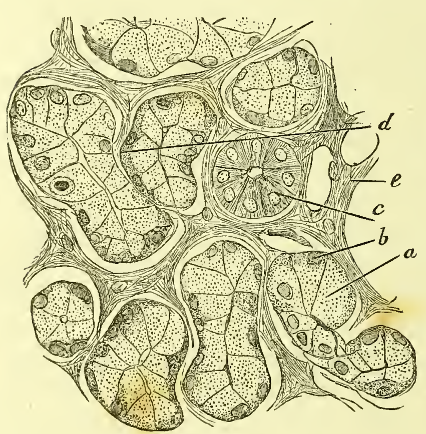


Fig. 182.—Corte de la glándula submaxilar del conejo de Indias.—Hematoxilina y parafina: *d*, semiluna de de Gianuzzi; *c*, conducto excretor; *e*, tejido conectivo intersticial; *a*, zona clara del protoplasma; *b*, zona turbia con el núcleo.

férica, y otra vieja y central, añadiendo que durante la actividad secretoria se destruye ésta para ser reemplazada por aquélla. Pero esta opinión es errónea, pues durante el acto secretorio no existe renovación celular, ni jamás se hallan núcleos en kariokinesis. Si á pesar de no haber más que una capa epitelial á veces parece que existen dos, esto es debido á que las secciones de las vesículas revelan las células en dos estados: turbio ó en reposo, claro ó en turgescencia secretoria (Stöhr). Las células turgescentes rechazan á las vacías, ocupando casi toda la luz glandular y obligándolas á recogerse en zona más periférica, en donde toman la forma de semilunas.

Cuando se examina con fuertes objetivos el protoplasma de las células salivales, se nota que está surcado por un retículo espeso, brillante, y de mallas poligonales, apretadas y poco aparentes en las partes opacas (semilunas de Gianuzzi), y más visibles y laxas en las zonas transparentes. Cada malla de estas últimas contiene una vacuola transparente, destinada á desaparecer durante el acto de la contracción del protoplasma para formar el líquido segregado (Ranvier).

Los pedículos de las vesículas, así como los primeros tallos que resultan de sus encuentros, poseen un revestimiento epitelial aplastado y transparente, continuo con el de las vesículas. De la reunión de estos tubitos se forman otros más delgados, cilindroides, de pared conectiva gruesa, y cuya característica consiste en contener un epitelio prismático de protoplasma oscuro, y estriado en la dirección mayor de las células, es decir, de un modo convergente á la luz del tubo (fig. 182, c).

En cuanto á los conductos excretores más gruesos, presentan una pared conectiva robusta y están tapizados por epitelio claro y aplastado.

Pulmón. Posee esta glándula, como también todas las arracimadas compuestas, un conducto excretor (*tráquea*), que se ramifica repetidas veces (*bronquios y sus ramas*) hasta constituir delgados tubos desprovistos de armadura cartilaginosa (*conductos respiratorios*) terminados por unas dilataciones piriformes (*infundíbulos pulmonares*). Las paredes de estas dilataciones presentan abolladuras hemiesféricas, más ó menos salientes (*vesículas pulmo-*

nares), que corresponden al grano de los acini de las glándulas análogas.

Consta cada vesícula de una *membrana*, una *red capilar* y un *epitelio*. La *membrana* es elástica, hialina y delicadísima; por fuera está reforzada por abundantes fibras elásticas dirigidas circularmente y acumuladas especialmente en las depresiones intervesiculares del infundíbulo. La *red* capilar (originada por la anastomosis entre las últimas ramas de la arteria y venas pulmonares que se reparten en el contorno de las vesículas), es finísima, apretada, de mallas circulares y de trabéculos tan delgados, que apenas puede pasar por ellos un hematíe. Yace la red por dentro de la membrana, á la que adhiere íntimamente. Por dentro de la red y limitando la luz glandular, hállase el *epitelio*, de una sola capa, caracterizado por la extrema delgadez de sus células, en un todo análogas á las endoteliales. La porción de éstas, que tapiza los capilares de la red, es hialina y delgadísima; pero la que corresponde al hueco de la malla es más espesa y turbia y contiene el núcleo. Un endotelio semejante reviste los conductitos respiratorios y el resto del infundíbulo. Los bronquios gruesos lo poseen vibrátil y estratificado; pero en los más delgados se presenta constituyendo una sola capa. Además de la mucosa, constan las paredes bronquiales de dos capas más: la fibrocartilaginosa y la muscular. Los cartílagos corresponden á la variedad hialina, adoptando en los bronquios gruesos la forma de anillos incompletos, y disponiéndose en los delgados (hasta los de 1 mil. de diámetro) en chapas irregulares, angulosas, esparcidas por todo el contorno del tubo. Entre las placas cartilaginosas y envolviéndolas por completo, hállase un tejido fibroso, rico en elementos elásticos. Los elementos musculares son lisos y se disponen en capa floja y plexiforme situada debajo del dermis de la mucosa sobre la zona glandular.

c.—*Glándulas tubulosas simples*. Indicaremos sumariamente algunos tipos principales:

Las *glándulas pépsicas* son tubos delgados, de dos á cinco décimas de milímetro de longitud, que atraviesan perpendicularmente la capa mucosa del estómago. Constan de una parte excretora ó *cuello* de la glándula y de otra secretora ó *cuerpo* y fondo de la misma. La porción excretora está formada por dos clases de células epite-

liales: células de *pepsina (delomorfas*. de Rollett, de *revestimiento* de Heindenhain) gruesas, redondeadas ó irregularmente cuboideas, de considerable tamaño, de protoplasma abundante, turbio y oscuro, que encierra un núcleo casi siempre central; y células pequeñas, cuboideas, claras, mucho más numerosas, de núcleo periférico y de protoplasma finamente reticulado (*delomorfas* de Rollet, *principales* de Heindenhain). Estas últimas constituyen una capa de revestimiento continuo, que se prolonga con el de la porción excretora, mientras que las primeras sólo se muestran acá y allá de un modo errático, sobresaliendo por su gran tamaño de la superficie general de la glándula. Por lo demás, las células de pepsina, contrariamente á lo que dicen algunos autores, forman parte del revestimiento epitelial, limitando más ó menos por su cara dorsal la luz de la glándula. Tanto en las células pépsicas como en las otras se hallan señales de kariokinesis (véase la fig. 183, d), observándose que la partición celular no se verifica de fuera á dentro, sino de abajo á arriba, de modo que los mismos elementos adultos vienen á reemplazar, al multiplicarse, á los destruídos á consecuencia de la secreción.

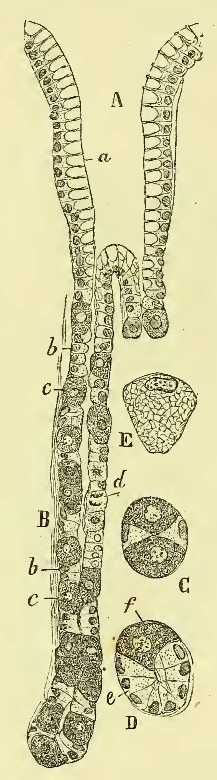


Fig. 183.—Corte longitudinal de una glándula de pepsina del mono (cercopithecus. A, porción excretora de la glándula; B, porción secretora; *a*, células caliciformes; *b*, células claras; *c*, células turbias; *d*, célula en kariokinesis; C y C, cortes transversales de las glándulas pépsicas que muestran en *e* las células claras y en *f* una turbia; E, célula clara examinada á mayor aumento.

La porción excretora es más ancha y se continúa insensiblemente por una boca en forma de embudo con la superficie estomacal. Es muy frecuente, como se ve en la fig. 183, que aboquen á una misma porción excretora dos glándulas pépsicas. El epitelio de dicha porción es prismático, alargado, con núcleo periférico y protoplasma claro. Casi todas las células son

caliciformes, distinguiéndose en ellas muy bien la membrana y el contenido de mucina en comunicación con el interior glandular por una ancha abertura.

Por fuera de la capa epitelial de la glándula hállase un tejido conectivo laxo muy fino y apretado, portador de la malla capilar.

La membrana anhista descrita por los autores, nos parece ser simplemente la parte más inmediata á la glándula de dicho tejido conectivo que se presenta aquí más condensado y fino.

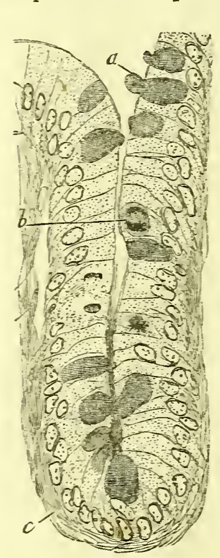


FIG. 184.—Un corte longitudinal de una glándula tubulosa del intestino delgado del conejo indiano: *b*, célula en kariokinesis; *a*, mucina en célula caliciforme; *c*, tejido conjuntivo.

Las *glándulas de Lieberkühn* tienen mucho parecido con las pépsicas, de las que discrepan principalmente por carecer de células *delomorfas*. Los fondos de saco que construyen son más cortos y las células que las revisten aparecen más claras y alargadas. Muchas de ellas sufren la degeneración mucosa, colorándose la parte transformada del protoplasma en violeta intenso por la hematoxilina. Las kariokinesis abundan, disponiéndose las figuras en el mismo sentido que el del tubo, para reemplazar fácilmente á las células destruídas por la degeneración mucosa (fig. 184).

Las *sudoríparas* y sus análogas las *ceruminosas* y las de *Moll* de los párpados son tubulosas, alargadísimas, que por uno de sus extremos se apelotonan en ovillo ó glomérulo. En cada una de ellas hay que considerar la porción secretora ó glomérulo y la excretora. La primera, más ancha, está construída de una capa de células cúbicas, una membrana anhista ó basal y un estrato incompleto de fibras musculares lisas longitudinales, que presentan la particularidad de alojarse entre la capa basal y el epitelio. La porción excretora comienza ya en el mismo glomérulo y se distingue por ofrecer dos ó tres capas de células epiteliales claras y aplastadas, por carecer de fibras lisas y por la tenue chapa con que la hilera epitelial más concéntrica limita la luz del conducto. Desprendido el conducto excretor de la

porción apelotonada, atraviesa casi rectilíneamente el tejido conectivo del dermis, penetra en el epidermis tomando dirección espiral y remata en la parte más alta de una cresta epidérmica. En la porción intraepidérmica, las células epiteliales del conducto sufren los mismos cambios que los corpúsculos de la capa de Malpigio, es decir, que se transforman en *eleidina* y *keratina*.

d.—*Glándulas tubulosas compuestas. Riñón.* Muestra á la simple vista la sección de esta glándula dos sustancias: una medular, pálida y como fibrosa, dispuesta en conos de base periférica y de vértice interno asomado en los cálices del riñón bajo la forma de papila *(pirámides* de Malpighi), y otra cortical, rojiza y granujienta, que, á más de circuir á la anterior, se prolonga entre los conos ó pirámides alcanzando hasta la pelvis renal *(columnas* de Bertin).

Tanto la trama cortical como la medular constan de tubos; pero el aspecto y dirección de éstos varía para cada una de ellas: en la medular son rectos y paralelos, convergiendo á la papila (tubos de Bellini); en la cortical son flexuosos y apelotonados, terminando por vesículas dilatadas *(tubos* de Ferrein y *ampollas* de Müller ó de Bowman). En el encuentro de dichas zonas, los tubos rectos de la medular no se tornan flexuosos de una vez sino á distintas alturas, formando, los que más sobresalen dentro de la capa cortical, unas eminencias cónicas de base central *(pirámides* de Ferrein).

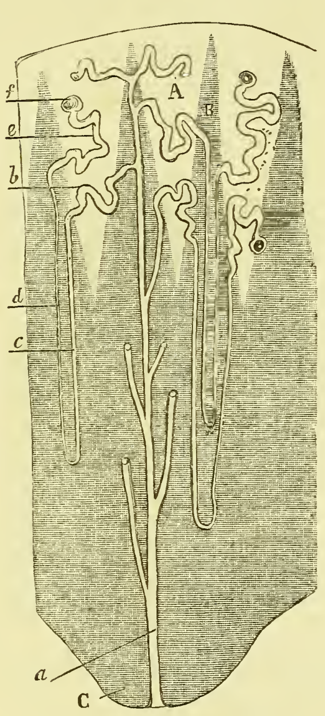


FIG. 185.—Esquema de la dirección de los tubos renales dentro de una pirámide de Malpighi: A, sustancia cortical; B, pirámide de Ferrein; C, vértice de la pirámide de Malpighi; *a*, tubo recto excretor; *b*, tubo de unión; *c*, rama ascendente del asa de Henle; *d*, rama descendente de la misma; *e*, tubo contorneado ó flexuoso; *f*, cápsnla de Müller y glomérulo de Malpighi.

Examinemos ahora la dirección de estos tubos uriníferos á par-

tir de su extremidad cerrada, es decir, en el sentido de la corriente de la orina. Comienza cada tubo por una vesícula ó ensanchamiento *(cápsula* de Bowman ó *ampolla* de Müller), esferoidal, de 100 á 120 μ de diámetro, alojada en la zona cortical y á variables alturas; se prolonga luego en conducto ancho y flexuoso (36 á 40 μ), por la susodicha zona; al llegar á la pirámide de Ferrein, se adelgaza bruscamente (de 7 á 10 μ), tórnase rectilíneo, y desciende hasta cerca de la papila de la pirámide de Malpigio *(rama descendente* del *asa* de Henle); en este sitio forma un arco de concavidad externa, y asciende en línea recta, aumentando de calibre para tornarse otra vez flexuoso y ancho en la zona cortical *(tubo de unión);* por último, ingresa nuevamente en la sustancia medular y termina en uno de los tubos rectos y gruesos *(tubos* de Bellini), que forman la pirámide de Malpigio. Estos conductos se juntan á otros y engendran, por convergencia y en ángulo muy agudo, aquellos gruesos tubos que, en número de 10 ó más, rematan en el vértice de la pirámide.

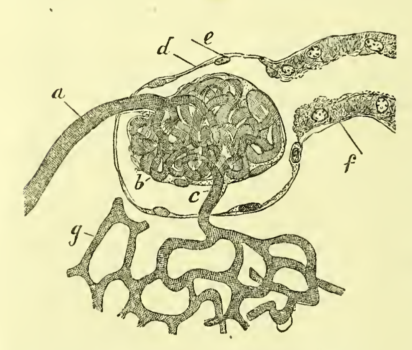


Fig. 186.—Corte de una cápsula de Müller y su glomérulo de Malpigio del riñón del conejo: *a,* vasito arterial ó aferente; *b,* capilares apelotonados del glomérulo; *c,* venita ó capilar aferente; *g,* capilares intersticiales de la red general; *d,* membrana basal ó glandular; *e,* endotelio que la reviste interiormente; *f,* células gruesas y turbias del tubo flexuoso en su porción terminal.

El carácter del epitelio es distinto en los distintos segmentos mencionados.

Así, en la cápsula de Müller las células epiteliales se ensanchan y aplastan á manera de endotelio (fig. 186, e); en las porciones anchas y flexuosas las células se engruesan, adquieren aspecto estriado, turbio, y contornos indistintos, sobre todo en sus límites internos, donde se ven á menudo ciertas expansiones irregulares (fig. 187); en el tubo descendente del asa de Henle, las células son más pequeñas y tan aplastadas que se justifica la equivocación cometida por algunos de tomar este tubo por un capilar sanguíneo; en la porción

ascendente del asa, el epitelio es más grueso, oscuro y como estriado, pero de contornos limpios; y, por último, el que reviste los tubos de Bellini es transparente, de núcleos evidentes, de protoplasma cúbico, correctamente limitado y algo saliente del lado de la luz glandular. Todo el trayecto flexuoso de los tubos puede considerarse como la porción secretora de la glándula; en tanto que las partes rectilíneas representan la porción excretora ó expulsora, bien que en esta glándula la función principal, la filtración sanguínea, tiene lugar en la cápsula de Bowman.

El acuerdo de los histólogos es completo por lo que toca á la dirección y conexiones generales de los tubos uriníferos. Pero existen dudas todavía acerca de la naturaleza de las células turbias que tapizan los tubos flexuosos. Heindenhain las supone formadas de bastoncitos paralelos implantados perpendicularmente á la superficie del conducto y en un todo análogos á los que se ven en el epitelio de los conductitos excretores salivales. Observaciones recientes ejecutadas por nosotros con fuertes objetivos nos han conducido á considerar estos bastoncitos, no como fibras aisladas sumergidas en el protoplasma, sino como las trabéculas longitudinales de la red protoplasmática, que por ser más gruesas y ofrecer una dirección más regular, son más visibles que las otras. Con todo, á veces faltan ó dejan de ser visibles, como sucedía en la preparación que representa la figura 187, B, tomada de un corte á la parafina, previo fijado en el licor de Flemming. Klein ha descrito además en la cara libre de dichas células unas expansiones filamentosas que califica de análogas á las pestañas vibrátiles. Kruse llega á decir que tales expansiones son la continuación de los bastones de Heindenhain. Pero en realidad tales prolongaciones ni son pestañas ni continúan individualmente con los hilos del armazón celular, pues son

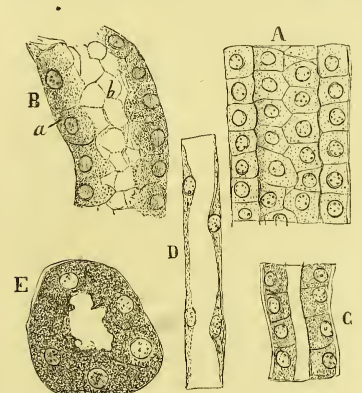


FIG. 187.—A, corte longitudinal de un tubo grueso de Bellini; B, corte de un tubo flexuoso de Ferrein; *a*, células turbias é irregulares que lo revisten; *b*, reticulación de la luz del conducto debida á precipitación en vesículas de una materia transparente; E, corte transversal de un tubo contorneado; D, corte de la rama descendente del asa de Henle; C, otro de la rama ascendente.

gruesas, cónicas, á veces ramificadas, y presentan todos los caracteres de las expansiones protoplasmáticas.

Entre ellas, y rellenando toda la luz del conducto, se ven á menudo unos cuerpos transparentes poliédricos á manera de burbujas, que nos parecen ser precipitaciones de los reactivos (fig. 187, B).

Cualquiera que sea el papel desempeñado por las diversas clases de células epiteliales mencionadas, es indudable que no se destruyen durante su actividad funcional, como lo prueba la ausencia de kariokinesis y la de formas degenerativas.

Los vasos renales son abundantísimos. Las arterias provienen de la renal, se reparten en la sustancia medular, llevando una dirección divergente, y en los límites de esta zona con la cortical constituyen, anastomosándose por inosculación, unas arcadas, de cuya convexidad parten ramitas divergentes destinadas, previa ramificación, á los glomérulos de Malpigio. El glomérulo es un pelotón vascular, de forma esferoidal, situado dentro de la cápsula de Müller, de la cual ocupa la mayor parte (fig. 186). Los capilares que lo constituyen son flexuosos y tan apretados, que es difícil distinguir sus contornos aun en las preparaciones inyectadas. Comunica el glomérulo por un ramo algo grueso *(vaso aferente)* con las arterias, y por otro más delgado *(vaso eferente)* con la red capilar intersticial, es decir, con la que rodea los tubos renales y tiene á su cargo la nutrición del parénquima. A veces el tubo eferente resulta más recio que los capilares intersticiales, lo que ha servido para que ciertos autores le hayan comparado con una pequeña vena porta *(vena porta renal)*, puesto que representa un tallo situado entre capilares raíces (los del glomérulo) y capilares ramas (los de la red nutritiva intersticial). Esta idea es exagerada, pues ó el calibre del vaso eferente es igual á la de dichos capilares, ó discrepa poquísimo. En cuanto al endotelio. de la cápsula de Müller, no es atravesado por los vasitos aferente y eferente, sino que los acompaña, saltando de la pared *(hoja parietal)* á la superficie del glomérulo *(hoja visceral)*.

e.—*Glándulas reticuladas. Hígado.* Esta glándula resulta de la agregación de infinidad de lobulillos esferoidales alargados, que parecen pender de las ramificaciones de las venas suprahepáticas.

Cuando se practica un corte tangencial del hígado, los lobulillos aparecen como campos redondeados ó ligeramente poligonales, de 1 milímetro poco más ó menos de diámetro y separados por tabiques conectivos, por donde caminan los gruesos vasos. Si el corte es axial ó paralelo á la dirección de las venas suprahepáticas, los campos lobulares se presentan alargados y de un diámetro mayor (de 1,5 á 2 milímetros).

Examinado á buenos aumentos un corte tangencial de un hígado previamente inyectado, se advierte que la trama vascular entra muy principalmente en su formación. En el centro del lobulillo se ve una rama de las venas suprahepáticas cortada de través (fig. 188), de la cual irradia una red tupida que remata periféricamente en las ramificaciones gruesas *(venas interlobulares)* de la vena porta.

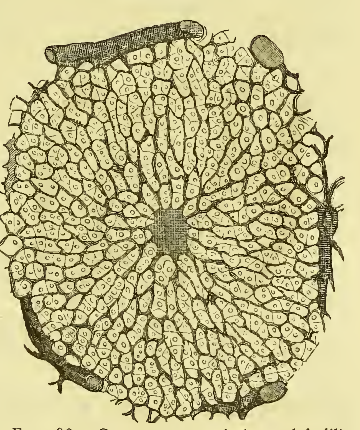


Fig. 188.—Corte transversal de un lobulillo hepático. Inyección al carmín.—Vese en el centro la sección de la vena suprahepática y en la periferia ramitas de la vena porta. Las células ocupan los islotes que dejan los capilares.

Las mallas de esta redecilla capilar están ocupadas por unos islotes más ó menos alargados y divergentes de células poliédricas, que representan el epitelio de la glándula hepática. El tamaño de tales corpúsculos oscila entre 14 y 30 μ. Su forma es poliédrica, pero sin diámetro predominante. Sus facetas son planas, excepto las que tocan á los capilares, que son cóncavas, para moldearse al contorno de ellos. El protoplasma es turbio, granuloso á flojos aumentos, pero limpiamente reticulado con fuertes objetivos. Contiene en sus mallas frecuentemente gránulos de grasa y partículas de una materia colorante amarillenta *(bilifulvina)*. El núcleo se distingue claramente, yaciendo de ordinario en posición excéntrica; á veces es doble, pero jamás se le halla en vías de kariokinesis. La cubierta celular es difícil de discernir, merced á su delicadeza, por lo que ha sido negada por algunos.

La cavidad glandular de los lobulillos hepáticos se diferencia mucho de la ofrecida por vísceras análogas. En vez de estar representada por conductos gruesos revestidos por varias células completas, lo está por resquicios tan finos, que apenas pasan de una milésima ó milésima y media de espesor. De lo que se sigue que sólo una parte muy limitada de las superficies celulares puede formar parte de la cavidad glandular. Esta cavidad es tubulosa, finísima y difícil de poner en evidencia en los cortes de hígado no inyectado. Semejantes tubitos *(capilares biliares)* yacen entre las células á las que rodean, anastomosándose entre sí y constituyendo una red poligonal apretadísima. Cada islote celular del lobulillo encierra varios canalículos biliares, los cuales, llegados á la periferia, desembocan en la red de gruesos conductos hepáticos interlobulares. La posición de cada capilar biliar es tal, que jamás tocan á los vasos sanguíneos, marchando de preferencia por el centro de las ristras celulares; de suerte que entre ambas especies de conductos media siempre, como en todas las glándulas, el cuerpo de un elemento epitelial. Casi siempre el conductito biliar está limitado por las facetas planas de dos solos elementos glandulares, de los que no más se aprovecha un pequeño trozo excavado en forma de semicanal ó surco finísimo (fig. 189, c). A veces el canalículo yace en el punto de convergencia de tres células, y, por consiguiente, los surcos están esculpidos en aristas protoplasmáticas. Al nivel del surquito aparece algo engruesada la membrana celular, por lo que algunos autores habían supuesto equivocadamente la existencia de una pared ó membrana propia del capilar biliar.

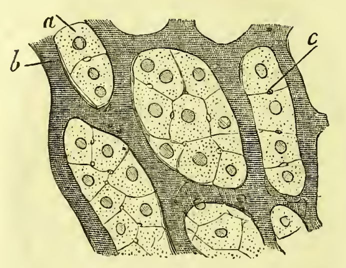


Fig. 189.—Corte de hígado de conejo. *a*, célula hepática; *b*, capilar sanguíneo; *c*, conducto biliar.

Entre los capilares sanguíneos y las masas celulares del lobulillo existen unas fibras finas, reticuladas, especialmente abundantes en torno de la vena central. Trátase probablemente de fibras de naturaleza conectiva, por más que Peszke las mire como filamentos semejantes á los elásticos.

El descubrimiento de los capilares biliares se debe á Gerlach. Su disposición y relaciones con las células han sido especialmente aclaradas por Hering y Budge en el hígado del conejo, valiéndose de las inyecciones finas por los conductos biliares gruesos. Pero lo que ha contribuído más á formar un concepto justo de la estructura hepática, ha sido el estudio de esta víscera en los animales inferiores y en los embriones de mamífero. Hering y Eberth han demostrado que el hígado de la rana, lagarto, etc., ofrece una composición francamente tubulosa, es decir, que lo que en el hombre son series ó islotes celulares anastomosados que contienen complejas redes de capilares biliares, aquí está representado bajo la forma de cilindros celulares que envuelven ó limitan un conducto biliar relativamente grueso. En el embrión sucede lo mismo; sólo más adelante aparecerá la complicación de las anastómosis y esa delicadeza de las redes que presta al hígado adulto su carácter especial. En el niño se conserva en parte, como Zuckerkand y Toldt han indicado, esa sencillez estructural embrionaria.

Algunos autores (Eberth, Peszke, Biesiadeckia) han hecho notar recientemente que, aparte de las redes de los capilares biliares, existen también expansiones en fondo de saco como en la glándula testicular; de suerte que el hígado sería una glándula tubulosa compuesta, cuyos conductos se anastomosarían en su itinerario por el lobulillo.

Respecto de la pared del capilar biliar, los pareceres andan encontrados. Hering había dicho ya que no existe pared ni otra limitación que la superficie misma de las células hepáticas. Kölliker supuso que la membrana de éstas se engrosaba al nivel del canalículo, opinión que se armoniza con nuestras propias observaciones. Pero Legros sostiene que no sólo hay pared, sino que es de naturaleza endotelial; y Eberth, Chrzonszczewski, Fleischl, etc., afirman la existencia de una película hialina.

f.—*Testículo.* Consta esta glándula de dos partes: la *armadura fibrosa* y los *tubos seminíferos.*

La armadura fibrosa está representada por una cápsula (membrana *albugínea*) espesa, blanca y brillante que rodea á la glándula, espesándose al nivel del borde superior de ésta, donde ofrece un engrosamiento de sección triangular *(cuerpo de Igmoro)* atravesado por los conductos excretores en red *(rete testis)*. De la cara profunda de tal espesamiento parten tabiques conectivos divergentes insertos en la cara interna de la cápsula, los que dividen el parénquima en compartimientos alargados ó lobulillos seminíferos. A más de tales tabiques, hay en cada lobulillo, separando los conductos seminífe-

ros, un tejido conjuntivo flojo, rico en lagunas plasmáticas y en vasos, y notable por la abundancia de células conectivas. Estas células (*células intersticiales* del testículo) son más gruesas que las conjuntivas comunes; ofrecen forma poliédrica y forman, á menudo, acúmulos ó cordones en torno de los vasos, como las células llamadas del *plasma*. En su protoplasma se advierten comúnmente gránulos grasientos y esférulas de una materia colorante morena.

Nussbaum, niega el carácter conectivo de estas células, identificándolas con aquellos elementos germinales del cuerpo de Wolf de donde se origina el epitelio del testículo y del ovario.

Los tubos seminíferos son larguísimos, gruesos (de 100 á 180 μ. de diámetro), flexuosos y flojamente adheridos entre sí. No son independientes por sus extremos, sino que forman redes de mallas larguísimas y complicadas cuyo apelotonamiento constituye el lobulillo seminífero. Cerca del vértice del lobulillo los tubos adquieren dirección rectilínea y convergen en uno solo *(tubos seminíferos rectos)*, el cual, anastomosándose en el espesor del cuerpo de Igmoro con el de los otros. lóbulos, constituye una red *(rete testis)*, de la que á su vez parten los tubos que entran en la formación del *epidídimo.*

La textura de los tubos seminíferos tiene que estudiar una *cubierta* y el *epitelio seminal.*

La *membrana* es gruesa, tingible en rojo por el carmín y estriada según su plano. En su espesor se contienen núcleos aplastados de sección transversal fusiforme, y concéntricos al tubo. La presencia de núcleos y estriaciones revela en la pared la existencia de membranas conectivas superpuestas separadas por una capa endotelial.

El *epitelio* varía de aspecto según el estado funcional del tubo seminífero. En reposo, la pared tubular aparece revestida de tres ó cuatro capas de células poliédricas, apretadas sin diferenciación bien apreciable, ni existencia de fases kariokinéticas. Pero, en estado de actividad, el epitelio ofrece numerosas variantes de disposición, que corresponden á etapas distintas de la espermatogénesis. He aquí las principales fases que hemos hallado nosotros en el testículo de la rata.

a.—La disposición estructural más común es la representada

por la figura D (fig. 190). En el interior del tubo seminífero yacen dos especies celulares distintas en forma y propiedades fisiológicas los *elementos alargados* y los *poliédricos*.

Los elementos *alargados* (fig. 190, D, e), llamados *espermatoblastos* (Ebner), *células de sostén* (Müller), *células ramificadas* (Sertoli), *células de pie* (Benda), etc., son de forma cónica y convergentes á la luz del conducto; su base se aplica á la pared del tubo seminífero y contiene un núcleo de sección triangular, y pobre en gránulos cromáticos; y su extremidad central, más ó menos ramificada, continúase con un racimo de zoospermos en distintas fases evolutivas. Las cabezas de éstos aparecen como adheridas al protoplasma de la célula alargada y presentan el aspecto de núcleos homogéneos, prolongados en forma de hierro de banderilla (rata).

Los elementos *poliédricos* llamados células *redondas* por Merkel, *movibles* por Sertoli, etc., son corpúsculos pequeños, casi libres, que se disponen en varias hileras en los intervalos de las células alargadas ó de sostén. De ordinario, la primera hilera ó la subparietal *(células de origen* de Benda) consta de células pequeñas más ó menos aplastadas, cuyo núcleo encierra abundante cromatina, mostrándose en vías de kariokinesis. La segunda fila contiene corpúsculos más voluminosos con núcleo grueso también en tránsito de división. Las demás capas encierran elementos más pequeños casi del todo libres, con núcleo sin señales cinéticas y pobre en cromatina.

b.—Otra disposición bastante frecuente es la figurada en A (figura 190). Las células alargadas están atrofiadas, ó quizás han desaparecido del todo; en cambio, las células poliédricas han adquirido notable desarrollo, distinguiéndose en tres estratos de apariencias bien diversas. Las de la primera fila son pequeñas, esféricas ó poliédricas y muestran señales kariokinéticas; las de la segunda son gruesas, de núcleo sumamente voluminoso y de cuerpo celular algo alargado. Es de notar que el núcleo de algunas de éstas contiene un nucleolo periférico que parece salirse de la envoltura nuclear, originando un corpúsculo pálido, débilmente tingible por los reactivos de la cromatina, que yace, á menudo, cerca del extremo central del protoplasma *(núcleo accesorio* de La Vallette) (fig. 190, A). La tercera capa comprende numerosos elementos piriformes (*células seminoformadoras* de Benda) cuyo núcleo sumamente pálido yace en

el extremo periférico del protoplasma. Algunos de éstos encierran también núcleos accesorios. Entre los elementos piriformes se notan á veces pequeños granos cromáticos envueltos por tenue cubierta acromática (fig. 190, A, d).

c.—El tercer tipo estructural se representa en la fig. 190, B. Adviértense en ella ciertas células gruesas, fusiformes, de núcleo voluminoso y elipsoide, provistas: de una expansión periférica, que no siempre toca á la pared del tubo, por impedirlo ciertas células esferoidales pequeñas (células de origen); y una expansión central delgada, que sostiene un racimo de las células piriformes semejantes á las anteriormente descritas, de las que sólo se distinguen por ser más alargadas, poseer un núcleo pálido y ofrecer un protoplasma vagamente contorneado. Es indudable que las células gruesas fusiformes representan elementos de sostén enlazados genéticamente con los de la fig. 190, A, c.

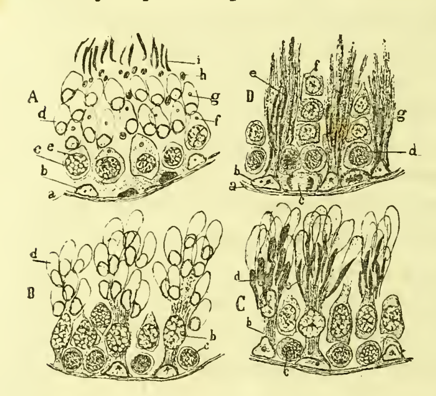


Fig. 190.—Diversos aspectos del epitelio de los tubos seminíferos de la rata. Fijación con el líquido de Flemming, coloración á la hematoxilina é inclusión en parafina.

A. Fase de la diferenciación de las células piriformes. *a*, membrana del tubo; *b*, núcleo triangular; *c*, célula gruesa en vías de kariokinesis; *d*, célula piriforme ó seminoformadora; *f* y *g*, núcleo accesorio; *h*, nódulos cromáticos sueltos; *i*, cabezas de los zoospermos libres.

B. Fase de la formación de los racimos de las células piriformes y de las alargadas; *b*, célula alargada ó de pie; *c*, célula de origen; *d*, células piriformes.

C. Fase en que las células piriformes se transforman en zoospermos; *d*, cabeza de zoospermo; *b*, célula de pie.

D. Fase terminal; *b*, célula de pie; *e*, manojo de zoospermos.

d.—Finalmente, en ciertos puntos del tubo seminífero se advierten las transiciones entre la disposición de la fig. B y la de la fig. D. Los corpúsculos de sostén se adelgazan y atrofian y las células piriformes que penden de uno de los extremos de aquéllos adquieren el aspecto de zoospermos jóvenes (fig. 190, D).

¿Qué interpretación daremos á estas diversas disposiciones, que parecen corresponder á diversas fases de la formación zoospérmica?

Es esta cuestión dificilísima, y sobre ella sólo pueden emitirse hipótesis más ó menos verosímiles á pesar de los recientes y notables trabajos de Balbiani, La Vallette, Benda, Ebner, etc. He aquí la que nos parece más probable, que, por lo demás, coincide casi del todo con el dictamen de Benda y el último trabajo de Ebner. Suponemos nosotros que de las células indiferentes que tapizan el tubo seminífero en reposo, se forman por diferenciación los varios elementos de la fig. 190, es decir, los corpúsculos alargados y los poliédricos. Los primeros son al principio gruesos y cortos, no llegando siempre hasta la membrana glandular (A), pero en las fases subsiguientes (fig. B y C) se alargan y adquieren forma conoidea. Las poliédricas se transforman, tras divisiones repetidas, en los elementos piriformes de la figura A; luégo éstos se agrupan é insertan por sus cabos nucleares en el extremo central de las células de sostén y allí permanecen hasta su total transformación en zoospermos. Las fases de esta metamórfosis se presentan en la fig. C y D donde se ve el núcleo del corpúsculo piriforme estrecharse sucesivamente hasta constituir la cabeza del filamento espermático. El protoplasma del corpúsculo piriforme, adelgazándose sucesivamente, engendra quizás el cuerpo y cola de dicho filamento. En cuanto al núcleo accesorio que se ve en la fig. A, formaría por eyección celular los granos cromáticos independientes que yacen entre las células poliédricas (h). En suma, el zoospermo es el resultado de la transformación de una célula independiente; y la célula de sostén representa un soporte puramente nutritivo, especie de placenta donde adherirían durante su evolución los filamentos seminales. Semejante placenta sería consumida por éstos, pues cuanto más vieja es la célula alargada más corta y atrofiada se presenta, estando quizás destinada á desaparecer por completo.

Las opiniones de los autores relativamente á la espermatogénesis son numerosas y en gran parte inconciliables. He aquí las más importantes:

Kölliker (*Die Bildung der Samenfäden in Bläschen als allgemeines Entwickelungsgesetz*, 1846) pensaba que los zoospermos se engendraban dentro de células multinucleares rodeadas de una membrana.

Sertoli (*Sulla struttura dei canalicoli seminiferi*, etc., 1865 y *Struttura dei can. sem. e svilupo dei nemaspermi del ratto*, 1878), y Merckel (Arch. f. Anat. und. Phys. 1871), demostraron que el epitelio de los tubos seminíferos con-

tiene dos clases de células: alargadas (ramificadas de Sertoli); y redondeadas y libres (móviles de Sertoli). Estas últimas engendran por sucesivas metamórfosis los zoospermos, representando los primeros elementos de apoyo ó del estroma seminífero sin capacidad espermatogenética.

Ebner *(Unters. über den Bau der Samenkanalchen*, etc., 1871) aceptó ambas especies celulares, pero invirtió los papeles, considerando á las alargadas como seminoformadoras ó *espermatoblastos,* y estimando las segundas como células indiferentes, quizás leucocitos trasmigrados. La producción de zoospermos resultaría un fenómeno de gemmación de la célula alargada. El cabo interno de ésta produciría numerosas expansiones que, puestas en libertad, vendrían á ser filamentos seminales. Las células alargadas ó espermatoblastos provendrían de una red celular germinal yacente debajo de la membrana glandular.

La Vallette de S. George (Arch. f. mik. Anat. Bd. XV, XXV, XXVII y XXVIII) admitía en el tubo seminífero dos especies celulares también: *seminales* y *foliculares.* Las primeras están destinadas á la espermatogénesis; pero las segundas no, representando por su posición y propiedades las que rodean el óvulo en la vesícula del Graaf. Entre las seminales admite cuatro grados evolutivos: *espermatogonias* situadas junto á la pared, las que por división engendran los *espermatocitos* que habitan más concéntricamente. Mediante sucesivas particiones, los espermatocitos originan las *espermatidas,* y éstas dan lugar, transformándose, á los *espermatosomas.* Los espermatocitos y espermatidas de ciertos animales se disponen en colonias rodeadas de una membrana *(quiste seminal);* pero en los mamíferos, aunque agrupadas en colonias, no hay enquistamiento *(espermatogemas).* El espermatoblasto de Ebner, con su racimo zoospérmico, representa una espermatogema.

Balbiani *(Leçons sur la génération des vertebrés*, 1879) admite también dos categorías celulares; pero otorga á las dos participación espermatogenética. Ciertas células tendrían significación de óvulos (espermatogonias de La Vallette), y las demás de elementos masculinos (células foliculares de La Vallette). De la copulación de los primeros con los segundos formaríanse las células alargadas ó en racimo (espermatogemas de La Vallette). Profesan esta opinión de Balbiani, Grünhagen (Lehrbuch der Physiòlogie 7 Auf. 1886), Brown *(On the spermatogenesis in the rat.* Quart. mic. Jour., etc., 1885) y Benda (Arch. für mikros. Anat. 1887) etc. La opinión de Benda, con la cual armonizan los resultados de nuestros trabajos personales, puede resumirse así: 1.º En los tubos seminíferos en estado activo se encierran dos elementos funcionales distintos: las *células de origen* y derivadas (las redondas ó poliédricas); y las *células de pie* (espermatoblastos de Ebner, de sostén de Müller, etc.) 2.º La función se inicia por la kariokinesis de las células de origen, que engendra las células madres; éstas se dividen á su vez produciendo las células seminales ó semino-

formadoras (piriformes); y por último, por la copulación de éstas con las células de pie se producen los elementos en racimo. 3.º Cada célula piriforme de las insertas en la célula de pie vendrá á ser, tras sucesivas diferenciaciones, un filamento seminal. 4.º Estos actos evolutivos ocurren por hornadas ó por brotes sucesivos, de manera que una porción más ó menos considerable de tubo sólo presenta una etapa espermatogenética. La sola cosa que nos parece dudosa en esta opinión de Benda es la fijeza y preexistencia de las células de pie, las que, si hemos de dar asenso á nuestras observaciones, se producen al mismo tiempo que los corpúsculos piriformes, atrofiándose y desapareciendo cuando la evolución zoospérmica queda terminada.

Ebner, en un trabajo reciente *(Zu Spermatogenese bei den Säugethieren.* Arch. f. Mik. Anat. Bd. XXXI, 1888) abandona su antiguo parecer y acepta el de Benda sobre la copulación de las células de sostén con un grupo de corpúsculos piriformes. Esta copulación vale tanto como un injerto en el cual la célula alargada desempeña el papel de soporte nutritivo.

Respecto de la participación que en la formación del filamento zoospérmico toman las diversas partes del corpúsculo piriforme, los pareceres andan encontrados. Kölliker y Benda aseguran que el núcleo origina todo el zoospermo. Sertoli, La-Vallette, Merkel, Nussbaum, Flemming, etc., pensaban que la cabeza se formaba del núcleo y lo demás del protoplasma; mientras que Ebner, Sabatier, Bolles-Lee, Ciaccio, etc., suponían que el núcleo en nada participa. Este punto reclama nuevas investigaciones.

Los *zoospermos* adultos son filamentos movibles de 60 ó más μ de longitud, que se hallan abundantemente en el líquido que llena los tubos seminíferos, epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales. Constan de tres partes: *cabeza, cuerpo* ó *porción media* y *cola.* La cabeza varía mucho de forma y tamaño en las diversas especies animales. En los zoospermos humanos es piriforme, algo aplastada y parece compuesta de una materia cromática homogénea rodeada de una membrana. La cola es tenuísima y va disminuyendo de espesor hasta su punta, que es difícil de discernir, á causa de su extrema delicadeza. El cuerpo es la porción más gruesa comprendida entre la cola y la cabeza; comienza junto á ésta por ligera estrangulación y termina en su unión con la cola mediante una estría no siempre bien perceptible. Con buenos aumentos y bajo la influencia de ciertos reactivos se llega á percibir que el cuerpo consta de un eje muy refringente y una corteza más clara. Alrededor de la cola se ha descrito recientemente por algunos un hilo finísimo espiral, que

comienza entre el cuerpo y la cola y se terminaría cerca del remate de ésta. Semejante filamento estaría sostenido en su posición por una especie de delicadísimo mesenterio, unido á toda la longitud de la cola. Esta disposición, que en la salamandra maculosa aparece notablemente desarrollada, y donde el hilo espiral y el mesenterio gozan de movimientos, no ha sido comprobada por nosotros en los zoospermos del hombre y mamíferos.

g.—*Glándulas vesiculares. Ovario.* Un corte de este órgano nos presenta dos zonas: una central, prolongada con el híleo y esencialmente formada de un estroma conectivo rico en vasos gruesos *(sustancia medular)*; y otra periférica, espesa, donde se contienen las partes características de este parénquima *(sustancia cortical)*, es decir, el *epitelio germinal* y las *vesículas de Graaf.*

El *epitelio germinal* forma una capa delgada, que reviste la superficie ovárica y se continúa con el endotelio peritoneal. Las células que constituyen dicha capa son cuboideas, de protoplasma turbio y núcleo relativamente voluminoso. De estos elementos derivan probablemente los óvulos, por lo cual se le ha dado el nombre de epitelio germinal. La continuidad entre las vesículas de Graaf y este epitelio, no aparece de ordinario en los animales adultos; pero en la vida embrionaria se la demuestra fácilmente, notándose que los óvulos constituyen cordones celulares englobados en el estroma ovárico, prolongados con el epitelio germinal, del cual representan simples invaginaciones ó repliegues.

Las *vesículas de Graaf* hállanse abundantemente diseminadas en la capa cortical. Las más gruesas y próximas á su madurez habitan en las zonas profundas, en tanto que las más jóvenes y pequeñas yacen en las partes más superficiales. Éstas se han denominado *folículos primordiales.*

Los folículos más rudimentarios constan de una sola célula (fig. 191, b) algo más gruesa y turbia que las del estroma, de cuyos fascículos la separan varios elementos pequeños, aplanados é irregulares, dispuestos en círculo incompleto. El núcleo de estos óvulos primitivos hállase comúnmente en kariokinesis.

En un estadio más avanzado el óvulo se engruesa considerablemente rodeándose de dos membranas: una delgada y granulosa, que envuelve el protoplasma y con el cual tiene adherencias *(membrana*

primaria) (fig. 191, d); y otra espesa, homogénea, parecida á las cápsulas de los elementos cartilaginosos *(membrana secundaria* ó *zona pelúcida).* Examinando á buenos aumentos esta última capa, se advierten ciertas estrías convergentes, que algunos han interpretado por conductos, pero que nos parecen ser como las de las chapas del epitelio intestinal, simples intersticios de una materia filamentosa. Flemming supone que á través de tales supuestos conductitos salen expansiones de la yema que se anastomosan con las células periovulares. Alrededor de la membrana secundaria, hállanse varias capas de corpúsculos pequeños que llenan toda la vesícula de Graaf, excepto en algún punto en que comienza á formarse una vacuola de plasma.

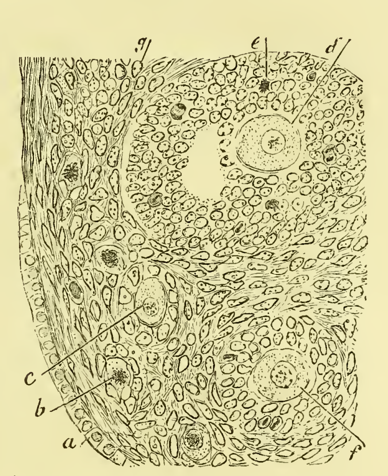


Fig. 191.—Corte del ovario de una coneja de Indias.—Fijación al ácido ósmico.—Hematoxilina y parafina. *a*, epitelio germinal; *b*, folículo rudimentario; *c*, otro algo más desenvuelto; *e*, célula de la zona granulosa periovular en kariokinesis; *d*, membrana primaria del óvulo; *g*, célula intersticial.

Finalmente, la vesícula de Graaf llegada á su madurez alcanza notable extensión, distiende las regiones periféricas del ovario, y el líquido plasmático interpuesto á las células periovulares separa netamente éstas en dos zonas unidas por uno ó varios puentes: la *granulosa* ó periférica situada por debajo de la pared folicular y compuesta de varias hileras celulares irregularmente limitadas, y el *cúmulo ovígero,* conjunto de capas que rodean inmediatamente el óvulo (fig. 192). La más interna de éstas consta de corpúsculos alargados y convergentes al centro ovular. Por lo demás, los elementos de estas zonas son pequeños, poliédricos ó esferoidales, escasos en protoplasma y provistos de un núcleo rico en cromatina. El acrecentamiento de las mismas tiene lugar por kariokinesis. (Véase la fig. 191, e).

En cuanto al óvulo maduro, es una célula esférica, de una á dos décimas de milímetro de diámetro. Su protoplasma *(vitellus),* ofre-

ce, á más de granos grasientos, un retículo pálido inserto de una parte al núcleo y de otra á la membrana primaria. El núcleo *(vesícula germinativa)* es notable por su tamaño (30 á 40 μ de diámetro), su excentricidad, su gruesa membrana acromática, su carencia de red de nucleína (pues sólo presenta algunos granos tingibles apenas por la hematoxilina), y, sobre todo, por la existencia de uno ó varios corpúsculos hialinos tingibles por los reactivos de la nucleína y limpiamente contorneados *(nucleolos* ó *manchas germinativas)*.

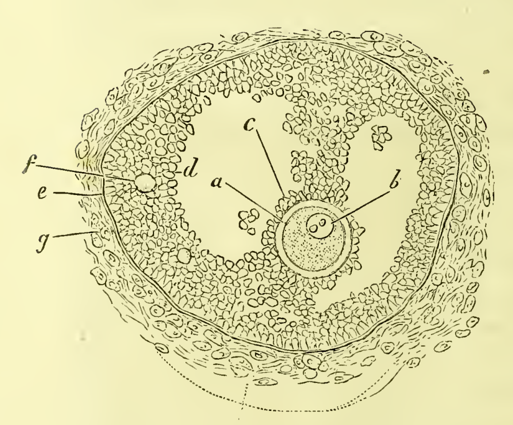


Fig. 192.—Corte de una vesícula de Graaf del ovario de la coneja.—Ácido ósmico; carmín; glicerina. *a*, protoplasma del óvulo; *b*, núcleo ó vesícula germinativa con dos nucleolos ó manchas germinativas; *c*, capa granulosa que rodea al óvulo, formada de pequeñas células epiteliales; *d*, zona granulosa que tapiza interiormente la vesícula de Graaf; *e*, pared de esta vesícula; *f*, vacuola limitada por células; *g*, capa fibrosa de la vesícula de Graaf.

El folículo de Graaf está limitado por una membrana delgada, anhista, reforzada exteriormente por fascículos conectivos y células aplastadas. En ella se esparcen los capilares constituyendo una red membranosa apretada. Entre las vesículas de Graaf se ven, á más de fascículos conectivos y capilares que forman sustancialmente el estroma, multitud de células poliédricas, más ó menos acumuladas, ricas en gránulos y comparables á las *perivasculares* ó á las *intersticiales* del testículo. Su significación y origen permanecen en la oscuridad. Comúnmente se las estima de naturaleza conectiva, por más que Nussbaum las haga proceder del epitelio germinal, del que serían formas abortadas.

h. — *Glándula tiroides.* Es el tipo de las vesiculares. En medio de un estroma conectivo ofrece esta glándula vesículas cerradas de 40 á 90 μ de diámetro, llenas de un liquido homogéneo ligeramente amarillento, cuya consistencia aumenta con la edad llegando á ser gelatiniforme. La superficie interna de las vesículas está revestida por una sola capa de células cuboideas.

CAPÍTULO XVI

SISTEMA VASCULAR

Def. El sistema vascular es la trama especial de que están construidas las paredes de los tubos sanguíneos y linfáticos. En esta trama se asocian en proporciones varias para cada especie vascular, tres tejidos simples: el epitelial, el conjuntivo y el muscular. El principal de tales factores es el epitelial, que jamás falta, constituyendo una membrana continua consigo misma, á la manera del endotelio de las serosas. Sobre esta membrana fundamental, y en aquellos parajes en que los tubos sanguíneo-linfáticos reclaman mayor resistencia, elasticidad ó contractilidad, se deponen estratos de tejido conectivo y muscular, que complican la simplicidad originaria.

Div. El sistema vascular comprende tres variedades histológicas: el *tejido capilar,* el de los *vasos gruesos* (venas y arterias) y el de los órganos *vásculo-sanguíneos* ó vásculo-linfáticos (bazo y ganglios linfáticos).

VARIEDAD CAPILAR

Los capilares se distinguen en sanguíneos y linfáticos.

1.—**Def.** Los sanguíneos son tubos delgados, ordinariamente microscópicos, que yacen en la trama de los órganos, enlazando las raicillas venosas con las últimas ramitas arteriales, y llevando el líquido nutritivo á la inmediación de las células.

2.—**Distribución general.** Los capilares se entremezclan á todos los tejidos, excepto al cartilaginoso y al epitelial. Yacen comúnmente á cierta distancia de las células, envueltos en una ganga conectiva. El *diámetro* de estos órganos varía mucho en los diversos tejidos, y según el estado de plenitud ó de vacuidad, pues se atem-

peran á la cantidad de sangre que los atraviesa; puede evaluarse, sin embargo, en 8 á 30 μ. Los capilares más delgados residen en el pulmón, retina y tejido muscular; y los más gruesos en el hígado, tejido óseo, etc. La *forma* del capilar es la de un cilindro más ó menos aplastado. A veces la superficie se presenta abollada con ensanchamientos cavernosos (capilares de los ganglios nerviosos y de los músculos rojos del conejo).

Los capilares se anastomosan en su itinerario, constituyendo redes cuya forma recuerda la disposición de los elementos histológicos á que se asocian. La angostura de la malla guarda relación con la actividad funcional del tejido: los más activos, como el glandular, nervioso y muscular, poseen redes apretadas y próximas á las células; mientras que los pasivos, como el óseo, fibrocartilaginoso, tendinoso, etc., presentan mallas amplias y escasos capilares.

3.—**Caracteres microscópicos.** Visto un capilar al microscopio, después de coloreado por el carmín nos presenta el aspecto de un tubo hialino, homogéneo y sembrado de núcleos elipsoideos y aplastados. Para percibir los límites celulares, y persuadirse de que cada núcleo corresponde á una individualidad celular, es preciso recurrir al nitrato de plata, que tiñe el cemento de unión, presentándonos campos irregularmente romboidales con el eje mayor paralelo al del capilar.

En los capilares delgados toda la estructura consiste en esta membrana endotelial; pero en los gruesos hay además por fuera del epitelio una capa de materia amorfa sembrada de núcleos *(túnica adventicia capilar).*

Capilares linfáticos. Estos son más gruesos é irregulares que los sanguíneos y constituyen también redes complicadas yacentes en el espesor de los tejidos. La *forma* del capilar es irregularmente cilíndrica, con numerosas dilataciones y estrecheces. De la red emergen muchas veces, en sentido perpendicular al plano de la misma, expansiones prolongadas y terminadas en fondo de saco, como sucede, por ejemplo, en las vellosidades del intestino. Las redes linfáticas se entremezclan ordinariamente á las sanguíneas, pero á menudo en ciertas mucosas aquéllas ocupan un plano distinto y más superficial que éstas.

No todos los tejidos poseen capilares linfáticos; los más ricos

en éstos son los tejidos muscular, glandular y conectivo, preferentemente el que constituye el dermis de todas las mucosas y serosas. Es dudosa la existencia de linfáticos en los tejidos óseo, nervioso y fibrocartilaginoso; con mayor razón faltarán en los epitelios y tejido cartilaginoso hialino que carecen de vasos sanguí-

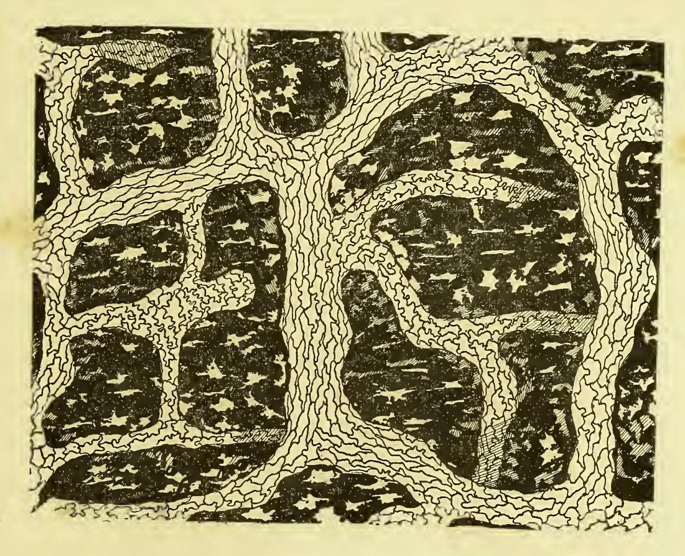


Fig. 193.—Red linfática de la cara superior del centro frénico del conejo.—Impregnación con el nitrato de plata, previo pincelamiento del endotelio pleural.—El fondo negro fórmanlo los haces conectivos y en él resaltan multitud de células estelares del tejido conjuntivo subepitelial.

neos. Las membranas fibrosas, tales como el periostio, aponeurosis y pericondro, los contienen, aunque en pequeña cantidad.

Las citadas redes constituyen el origen verdadero de los vasos linfáticos, no existiendo las comunicaciones directas con las serosas, lagunas conectivas, espacios perivasculares del sistema nervioso, etc., que ciertos autores han descrito, dando por seguro que el sistema linfático es la continuación de las grandes cavidades explágnicas é intersticiales. Dichas redes de origen alójanse entre los elementos histológicos y abocan, tras curso más ó menos largo,

á vasos linfáticos más gruesos también anastomosados, caracterizados por las válvulas que presentan en su curso y por su aspecto moniliforme. Por fin, de estos vasitos se forman los tallos más robustos que acompañan á las arterias y venas.

La estructura de los capilares linfáticos es idéntica á la de los sanguíneos. Constan también de una membrana endotelial delgada

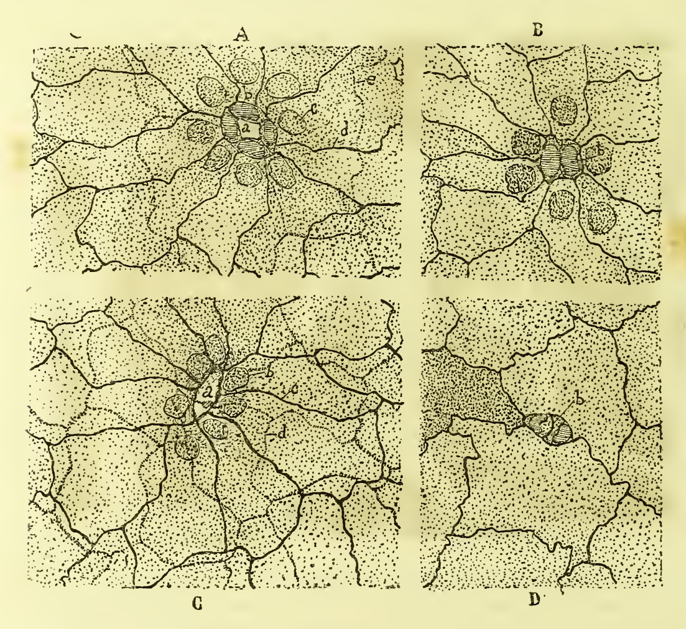


Fig. 194.—Membrana retroperitoneal de la rana.—Impregnación por el nitrato de plata.
A. Una abertura linfática enfocada por la superficie peritoneal: *a*, agujero; *b*, células pequeñas marginales; *c*, núcleo de las células endoteliales divergentes; *d*, cemento.
B. Un estoma linfático en vías de producción. Las células epiteliales convergen en *b* y la abertura está tapada por dos células pequeñas.
C. Forma de estoma linfático más frecuente. Las células epiteliales pequeñas de las anteriores figuras parecen haberse desprendido.
D. Abertura mirada por el lado linfático; vense en *b* dos células obstruyéndola.
Nota: las líneas punteadas de las figuras A y C, representan el endotelio linfático, y las negras el peritoneal.

y sumamente dilatable. El contorno de las células que la forman es notablemente flexuoso, como dentellado, carácter que las distingue de las endoteliales sanguíneas (fig. 193).

Ciertos autores afirman la continuidad de las cavidades serosas con los capilares linfáticos, fundándose en la siguiente experiencia de Ludwig y Schweiger-Seidel: Sobre la cara inferior del diafragma de un conejo recién sacrificado, se vierte una solución de azul de Prusia, y al poco rato, y después de mantener á beneficio de movimientos de dilatación y contracción pulmonar una suerte de respiración artificial, se advierte inyectada de azul la red linfática subpleural, lo que significaría la existencia de aberturas preformadas entre el epitelio peritoneal y los vasos linfáticos intertendinosos del centro frénico.

Ranvier, que ha repetido esta experiencia, defiende el parecer de los citados autores, señalando en el epitelio peritoneal que reviste los intersticios de los manojos tendinosos diafragmáticos (véase pág. 292), la existencia de aberturas redondeadas en comunicación con los capilares linfáticos, las cuales se presentarían en las impregnaciones argénticas flojamente cerradas por un tapón de corpúsculos blancos. Estas aberturas han recibido el nombre de *pozos linfáticos*.

No todos los autores asienten á este parecer. Así, por ejemplo, Tourneaux y Hermann no vacilan en negar semejantes comunicaciones, inclinándose á estimar esas células pequeñas y granulosas que, ya en series lineares, ya en grupos más ó menos redondeados, se presentan en el endotelio del centro frénico como simples elementos epiteliales jóvenes, destinados á reemplazar á los adultos ó á los en vías de destrucción.

Nosotros nos asociamos también al dictamen de Tourneaux. Tales células pequeñas están dispuestas en grupos que traducen fielmente las depresiones de las serosas, como Dybkowsky ha demostrado particularmente en la pleura intercostal. Jamás se ve abertura ni discontinuidad en el endotelio peritoneal próximo á los linfáticos del centro frénico, ni poseen las pretendidas células-tapones los caracteres propios de los leucocitos (núcleo con gibas, abundante protoplasma, etc.). Si al nivel de estos grupos de pequeños elementos endoteliales se filtra la materia de inyección en la experiencia citada, esto depende de su mayor proximidad á la red linfática, puesto que se insinúan y revisten los espacios ó rendijas intertendinosas.

Más efectivas parecen las comunicaciones entre la cavidad peritoneal y la gran cisterna linfática de la rana, descubiertas por Dogiel y Schweiger-Seidel. Esta cisterna es un reservorio continuo con el sistema linfático, situado en el espesor de la pared posterior del abdomen, entre el peritoneo y la cara anterior de la columna vertebral y órganos que la recubren. El septo ó membrana que separa esta cavidad de la peritoneal, es finísima y consta de una hojuela conectiva y dos revestimientos epiteliales: uno posterior ó linfático formado de células anchas poligonales y de contornos festoneados, y otro

anterior ó peritoneal constituído por elementos endoteliales alargados y casi siempre dispuestos en estrellas (fig. 194, A, B y C).

Examinando atentamente el foco de estas estrellas en las preparaciones impregnadas por el nitrato de plata, se nota que unas veces está constituído por una ó varias células pequeñas, granulosas y de núcleo relativamente voluminoso (fig. 194, B); otras, por dos ó tres corpúsculos menudos que rodean una cripta desigual á cuyo nivel se deprime la membrana y existe una perforación completa (fig. 194, A), y otras, en fin, por aberturas anchas, alargadas, de bordes deprimidos y sin elementos marginales pequeños (fig. 194, C). En todo caso se advierte el núcleo de las grandes células convergentes (fig. 194, C) casi tangencial á la abertura.

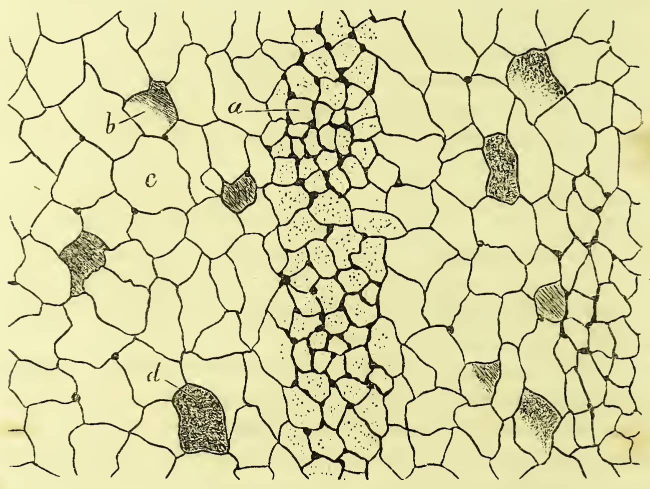


Fig. 195.—Cara peritoneal del centro frénico del conejo.—Impregnación argéntica; *a*, células más pequeñas separadas por una capa de cemento espeso é irregular: estos pequeños corpúsculos corresponden á las depresiones tendinosas del diafragma; *c*, células grandes situadas sobre los fascículos tendinosos salientes; *d*, cédulas teñidas de un matiz moreno oscuro por la plata; *b*, células semi-impregnadas.

Por la cara linfática y al nivel de las referidas estrellas, el endotelio no pierde su disposición ordinaria; solamente en el punto correspondiente á la perforación peritoneal existe, ó un pequeño orificio parecido á un grueso estoma vascular, ó una abertura alargada y amplia, con ó sin bordeamiento de pequeños elementos (fig. 194, D, b).

Probable es que las figuras estrelladas sin perforación central constituyan la primera fase evolutiva de las con abertura. A nuestro modo de ver, las cé-

lulas centrales pequeñas de las estrellas no perforadas, se apartan y deprimen para dejar un resquicio que se va ampliando por el replegamiento de las mismas hacia la cisterna linfática (fig. 194, A). En el curso de estas transformaciones, las pequeñas células llegan á caer ó se destruyen en su lugar para originar las estrellas de ancha perforación y sin pequeños elementos limitantes.

Las comunicaciones que acabamos de describir no se han descubierto en ningún otro animal á más de la rana; por lo que sería proceder muy de ligero generalizar á los vertebrados superiores la existencia de las mismas ó de parecidas disposiciones.

Hipotéticas son también las comunicaciones supuestas por algunos micrógrafos entre las redes linfáticas y las lagunas del tejido conectivo; y, con mayor motivo las que Virchow, basándose sobre la falsa concepción de la estructura de las células conectivas (que reputaba huecas, canaliculadas, anastomosadas y llena de plasma circulante), juzgaba establecidas entre los linfáticos y sus conductitos celulares. Igual juicio debe merecer la hipótesis de Recklinghausen, quien, fundándose en sus nitrataciones de la córnea y centro frénico, describía en el seno del tejido conectivo unos conductos más amplios que los de Virchow, pero también anastomosados entre sí y con la red linfática terminal *(conductos del jugo)*.

Desarrollo de los capilares.—Cuando se observan al microscopio las expansiones membranosas de la cola del renacuajo ó el epiplon mayor de un conejo ó gato recién nacidos, se advierten, al lado de redes capilares completas, otras que se hallan en vías de formación. El nuevo capilar nace siempre de uno preexistente y se inicia bajo la forma de una expansión protoplasmática sólida nacida en ángulo casi recto del plano de un corpúsculo endotelial (figura 196, A). Esta expansión, que se parece á una espina en sus comienzos, crece rápidamente hasta juntarse con alguna de las llegadas en dirección opuesta. Fórmase así un cordón intervascular, primero sólido, pero que no tarda en ahuecarse á impulsos de la corriente sanguínea que bate insistentemente sus extremos.

Todas las fases de este curioso proceso se pueden observar en una misma preparación. Así se ven, á menudo, tubitos canaliculados á medias, es decir, tabicados aún por un tapón protoplasmático que tiembla á impulsos de la corriente (fig. 196, B) y numerosas puntas más ó menos macizas (A, C), algunas de las que (D), por consecuencia de la blandura de la pared, dejan escapar algunos leucocitos y hematíes. Terminada la canalización, se individualiza

el protoplasma, limitándose en territorios endoteliales, cada uno de los que corresponde á un núcleo del cordón. El crecimiento de los vasos tiene lugar por escisión de las células preexistentes. En el mesenterio y epiplon del gato, es muy frecuente ver kariokinesis tanto en los núcleos de los capilares en formación, como en los completamente terminados.

Tejido de las arterias.—La pared arterial exhibe una composición algo variable según el calibre y situación del vaso. En gene-

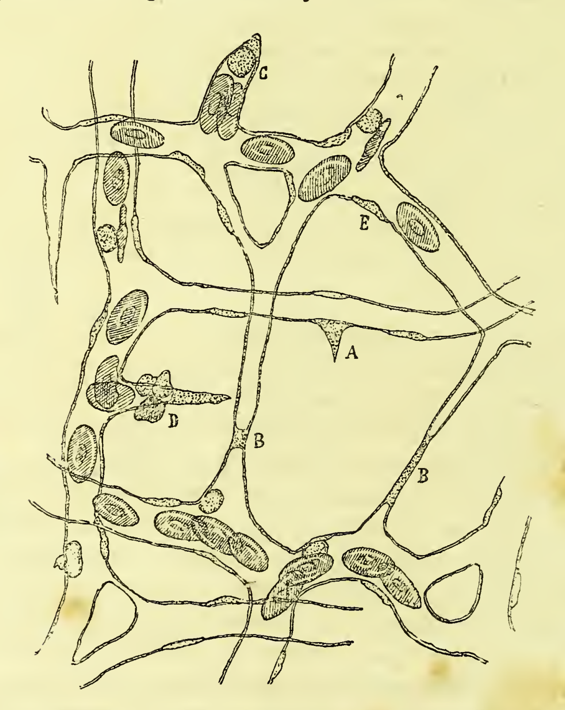


Fig. 196.—Capilares sanguineos en vías de crecimiento de las expansiones membranosas de la cola del renacuajo.—Examen en vivo. A, punta de crecimiento; B, puentes protoplasmáticos sin ahuecar; D, punta de crecimiento por donde se extravasa un hematie y dos leucocitos.

ral, pueden admitirse en ella tres túnicas: una *externa,* conectiva ó adventicia y eminentemente extensible; otra *media,* músculo-elástica, friable y más ó menos contráctil, y otra *interna,* elástico-endotelial, lisa, delgada, que limita la corriente sanguínea. La túnica

media es la que presenta más variaciones, tanto en espesor como en estructura, según el calibre del vaso. En las pequeñas arterias consta especialmente de fibras musculares lisas, mientras que en las gruesas se compone casi exclusivamente de tejido elástico. De aquí la conveniencia de distinguir dos tipos de tejido arterial: *arterias pequeñas* ó musculares; *arterias gruesas* ó elásticas.

Arterias musculares. — Corresponden á este tipo todas las arterias cuyo calibre no excede el de la radial (pedia, radio-palmar, facial, hepática etc.).

La *túnica externa* consta de fascículos conjuntivos dispuestos en todas direcciones, pero principalmente en la perpendicular al eje del vaso. Los fascículos están separados por células conectivas aplanadas y por numerosas redes elásticas que se concentran particularmente en la parte más interna de la adventicia. Las fibras elásticas se orientan en gran parte transversalmente al eje vascular, por lo que aparecen en los cortes transversales bajo la forma de un punteado brillante (fig. 197, d).

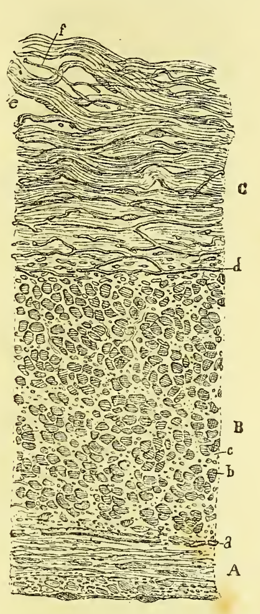


Fig 197.—Corte longitudinal de la arteria facial.—A, capa interna; B, capa media; C, capa externa; *a*, membrana elástica perforada; *b*, corte de una fibrocélula muscular; *c*, sustancia amorfa; *d*, fibras elásticas de la capa externa; *e*, fascículo conectivo de la capa externa.

En algunas arterias (dorsal del pene, esplénica, mesentérica, renal, uterina, etc.) ofrece también la túnica externa algunas fibras musculares lisas longitudinalmente dispuestas.

La *túnica media* está construída por un cemento homogéneo ó ligeramente estriado, en cuyo seno hállanse englobadas algunas redes elásticas finas, y, sobre todo, un considerable número de fibras musculares lisas transversalmente orientadas. Los cortes longitudinales presentan estas fibras seccionadas de través bajo la forma de campos poligonales ó redondeados de extensión desigual é irregularmente agrupados. Los más extensos de estos campos (que corresponden

á la porción gruesa ó ecuatorial de las células musculares) exhiben núcleos (véase la fig. 197, b).

La *túnica interna* ofrece de dentro á fuera: el endotelio formado de elementos peliculares ligeramente abultados al nivel del núcleo; una sustancia fundamental vagamente estriada á lo largo y cruzada por algunas fibras elásticas delicadas; y una membrana elástica gruesa perforada (*membrana fenestrada*) que sirve de valla separatoria entre las túnicas media é interna.

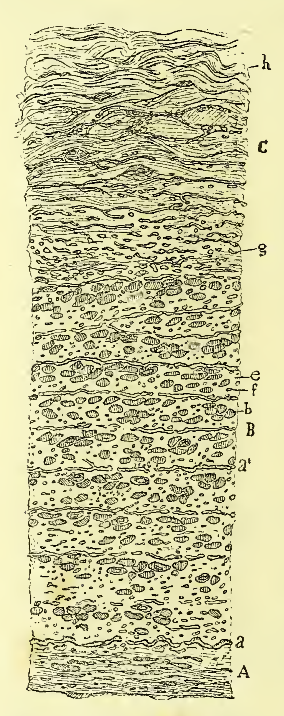


Fig. 198.—Corte longitudinal de la arteria subclavia.—A, capa interna; B, media, y C, externa. *a*, membrana elástica más interna; *a'*, membranas elásticas más delgadas de la capa media; *b*, fibra muscular cortada de través; *e*, materia amorfa; *f*, sección de una fibra elástica; *g*, fibras elásticas de la capa externa; *h*, fascículos conectivos de la misma.

Esta membrana elástica, que tiene gran tendencia á plegarse longitudinalmente, aparece fuertemente ondulada en los cortes transversales.

Arterias elásticas.—A este tipo corresponden todas las gruesas desde el calibre de la humeral en adelante.

La *adventicia* se presenta en estas arterias rica en tejido conjuntivo y fibras elásticas. Entre los haces más externos, alójanse á menudo células adiposas y vense acá y acullá algunos capilares sanguíneos *(vasa vasorum)*. Las fibras elásticas se reunen á veces en tan gran número junto á la túnica media, que casi se justifica su individualización en una nueva capa *(elástica* de Henle).

La *túnica media* es notablemente espesa, constituyendo en gran parte la pared vascular. En ella se advierte á más de la materia amorfa ya mencionada, y las redes elásticas entremezcladas de escasas fibras musculares transversales, multitud de membranas elásticas fenestradas, gruesas, dispuestas concéntricamente, pero á cierta distancia, limitando espacios anulares rellenados por

los otros elementos (fig. 198, *a'*.) Cuanto mayor es el calibre de la arteria, más abundan las membranas y las fibras elásticas y menos los elementos contráctiles. Según Bardeleben, á más de las fibras musculares transversales, hallaríase también en el límite interno de esta túnica un estrato longitudinal de las mismas.



FIG. 199.—Tejido reticulado de un folículo de un ganglio linfático del buey.—Alcohol al tercio.—Goma y alcohol.—Pincelamiento de los cortes.—*a*, núcleo de una célula conectiva superpuesta á un fascículo; *b*, entrecruzamiento de varios haces; *c*, pedazo de capilar sanguíneo; *d*, corpúsculo linfático en proliferación; *e*, células linfáticas enanas.

B. Células linfáticas de un ganglio de conejo indiano, disociadas en el licor sódico-metílico; *a*, célula nuclear con escasísimo protoplasma; *b*, hematíe; *c* y *d*, corpúsculos linfáticos con ligero limbo hialino; *e* y *f*, células hialinas en kariokinesis; *g* y *h*, grandes células hialinas; *i*, célula conjuntiva?; *j*, leucocito.

C. Los mismos elementos en el perro joven; *a*, célula enana; *c* y *d*, hialinas grandes; *b*, célula de transición.

La *túnica interna*, ofrece espesor mucho mayor que en las pequeñas arterias y comprende de dentro á fuera: primeramente el endotelio. Más hacia afuera una zona espesa, finamente estriada á

lo largo con todos los caracteres de los fascículos conjuntivos. En ella yacen sumergidas células estrelladas, análogas á las corneales, provistas de un núcleo alargado ú ovoideo (*capa subepitelial*, *capa estriada* de la *interna* de Kölliker). Mas hacia afuera, adviértense numerosas fibras elásticas finísimas y dispuestas en redes de mallas longitudinales. Y, por último, en contacto con la túnica media, hállase la membrana elástica fenestrada, que se distingue de las de aquélla, por su mayor robustez y por sus plegaduras longitudinales (fig. 198, a).

Estructura de las venas.—Consta también la pared de estos vasos de tres túnicas cuya disposición, á diferencia de la de las arterias, varía poco con los distintos calibres. En cambio puede afirmarse que cada vena, por razón de su posición y de las particulares funciones que desempeña, presenta una estructura particular.

En general, cabe afirmar que la *túnica adventicia* es la más gruesa é importante, componiéndose de fascículos conectivos, redes elásticas y algunas fibras musculares longitudinales; que la *media* consta de sustancia amorfa cruzada por redes elásticas y escasas fibras musculares transversales; y que la *interna* se constituye de un endotelio de células alargadas, de una materia estriada á la largo y algunas redes elásticas delicadas.

El tejido muscular falta por completo en los senos de la duramadre, la vena cava superior y gran parte de la inferior, las más pequeñas venas, etc., y hállase escasamente repartido en la mayor parte de las venas viscerales (hepática, esplénica, pulmonares, cardíacas, renal, mesentéricas, etc.). Abunda, por el contrario, así como el tejido elástico, en la túnica media de las venas cutáneas y de las gruesas algo superficiales (poplítea, femoral, safenas, etc.).

Ganglios linfáticos.—Son órganos globulosos ú ovoideos, de consistencia parenquimatosa, situados en el trayecto de los vasos linfáticos gruesos y especialmente constituídos de tejido citógeno ó adenoideo.

Cuando se examina al microscopio un corte ganglionar, previamente descargado, á beneficio del pincel, de los leucocitos que llenan sus espacios cavernosos, se nota que toda la trama ganglionar se reduce á dos partes: el *estroma conjuntivo* y las *formaciones citógenas*.

Estroma.—Imagínese una cápsula conjuntiva rodeando completamente el ganglio, de la cual parten interiormente trabéculas fasciculadas ya acintadas, ya cilíndricas, divididas y subdivididas repetidas veces para constituir un sistema de cavidades irregulares ampliamente comunicantes entre sí. Semejantes trabéculas, que están construídas de fascículos y células iguales á las del tejido conectivo laxo, son más gruesas y hállanse más distantes en la región cortical que en la central del ganglio, alojando las prolongaciones más voluminosas del tejido citógeno (folículos linfáticos). A menu-

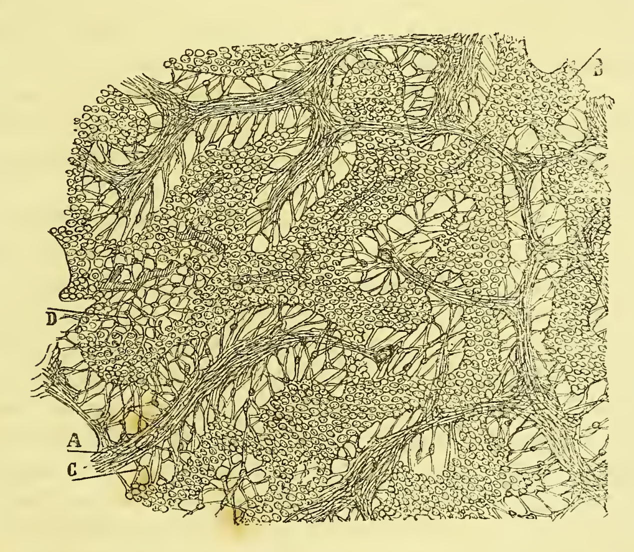


Fig. 200.—Corte tratado por el pincel de la región medular de un ganglio de carnero.—A, tabique conjuntivo ó del estroma; B, cordón medular anastomosado en red; C, fibras conectivas del sistema de suspensión; D, red filamentosa de un cordón medular en que el pincel arrastró casi todos los elementos englobados en ella.

do está el estroma reforzado por fibras musculares lisas, y siempre encierra fibras elásticas y arterias y venas voluminosas (fig. 200).

Sustancia adenoidea. — La formación citógena ó adenoidea yace en las cavidades del estroma, constituyendo un sistema de cordones irregulares, macizos y anastomosados entre sí, los cuales, después de llenar casi todo el espesor del ganglio, se terminan en la

zona cortical por gruesas dilataciones libres, de forma globulosa ó piriforme. A las expansiones citógenas anastomosadas del centro ganglionar se les conoce con el nombre de *cordones medulares;* y con el de *folículos linfáticos* ó el de nódulos corticales, á las porciones libres ensanchadas de la misma sustancia que yacen en la zona cortical. El diámetro de los folículos oscila generalmente entre 0,5 y 1 milímetro, y el de los cordones medulares entre 0,02 y 0,1. Existen, por lo demás, grandes variantes de dimensión en los diversos animales.

La trama de los folículos linfáticos, así como la de los cordones medulares, está formada, en todo su espesor, de tejido citógeno (véase la pág. 425), es decir, de una fina red conectiva cuyas mallas están rellenadas por corpúsculos redondeados. Contiene además numerosos capilares sanguíneos cuyas paredes espesas, reforzadas por una túnica adventicia, reciben la inserción de los finos fascículos citógenos (fig. 199).

Espacios linfáticos. —Entre el estroma y las masas citógenas descritas, existen unos espacios cavernosos, continuos en todo el grosor del ganglio, en los cuales desaguan los linfáticos aferentes y toman origen los eferentes. La disposición de estas oquedades es tal, que á pesar de su complicada extensión, jamás tocan las trabéculas del estroma á las formaciones adenoideas (véase la fig. 200). A fin de conservar una situación siempre central en las lagunas del armazón, las partes citógenas hállanse sostenidas por delicadas trabéculas de tejido conjuntivo, las cuales, partiendo de la superficie de los folículos y de los cordones medulares con cuya delicada red conectiva se continúan, vienen á insertarse y confundirse en los haces conjuntivos del estroma. Este sistema de *suspensión,* unas veces se logra á favor de fascículos rectos insertos casi perpendicularmente en las superficies próximas del estroma y cordones citógenos, y otras merced á hacecillos ramificados, y aun anastomosados en red de flojas mallas. (Véase la fig. 200, C). Cada uno de estos finos fascículos, así como todas las superficies limitantes de los espacios linfáticos, están revestidos de un delicado endotelio, como se demuestra claramente en los ganglios linfáticos inyectados con nitrato de plata. Los núcleos que se advierten pegados á las trabéculas del *sistema de suspensión* en los cortes pincelados de gan-

glio, pertenecen á las células endoteliales que las revisten. Por lo demás, este endotelio es simple continuación del de los vasos linfáticos aferentes y eferentes, como los espacios que limitan son una verdadera dilatación cavernosa de la cavidad de los mismos.

El ganglio posee generalmente una disposición reniforme. Por el lado de la convexidad penetran en número de dos á cuatro los vasos linfáticos aferentes; y por la depresión ó íleo-ganglionar emergen los eferentes, que son siempre menos numerosos. La corriente linfática se derrama primero en el sistema cavernoso perifolicular, arrastra á su paso muchos de los elementos citógenos que quizás atravesaron el endotelio de los cordones adenoideos merced á sus movimientos activos, y alcanza por fin, concentrándose, la región del íleo y la cavidad de los linfáticos eferentes.

Bazo. — Esta víscera consta también muy principalmente de tejido citógeno, sólo que sus trabéculas en vez de estar, como en los ganglios, bañadas por la corriente linfática, lo son por la sanguínea. De aquí el nombre de *glándula linfático-sanguínea* que le ha dado Frey.

En el bazo hay que estudiar cuatro partes principales: el *estroma conectivo,* las *formaciones citógenas*, los *espacios cavernosos* y la *pulpa esplénica.*

Estroma.—Está representado en primer término por una cubierta de tejido conectivo laxo, entremezclado de fibras elásticas y reforzado por elementos musculares lisos, la cual, después de aforrar todo el órgano, se continúa al nivel del íleo con las túnicas adventicias de los vasos esplénicos. De la superficie interna de la cápsula parten trabéculas conectivas que se ramifican y anastomosan entre sí, limitando un sistema de cavidades comunicantes donde se alojan los elementos de la pulpa ó barro esplénico. Estas trabéculas insértanse también en la cubierta conectiva gruesa que poseen los vasos sanguíneos y particularmente en los venosos. Al igual de la cubierta general esplénica, encierran también estos tabiques fibras conectivas, musculares y elásticas.

Formaciones citógenas.—Las mallas que resultan entre los tabiques conectivos del estroma están divididas en otras mucho más menudas y numerosas, pero ahora no por fascículos conjuntivos ordinarios, sino por cordones citógenos, en un todo comparables á

los adenoides de la región medular de los ganglios linfáticos. Cada cordón de éstos, consta, pues, de un armazón de finísimos haces conectivos dispuestos en red cerrada y de numerosos corpúsculos encerrados en sus mallas.

De trecho en trecho vense también en medio de estas redes citógenas unos cuerpos globulosos, de un tamaño variable entre 2 y 6 décimas de milímetro, que se conocen con el nombre de *corpúsculos* de Malpigio. Tales cuerpos, que pueden compararse en un todo con los folículos linfáticos, están construídos también de tejido citógeno. Cada uno de ellos es atravesado por una arteria que les provee de capilares, y por su circunferencia se continúan con los cordones adenoides de la pulpa.

Participan igualmente de la textura adenoide las túnicas vasculares. Las ramas de la arteria esplénica se cubren, como ya hemos dicho, desde el momento en que ingresan en el parénquima por una cubierta conjuntiva densa. Al principio este revestimiento ofrece los caracteres del tejido conectivo laxo, pero pronto cambia de aspecto. Sus trabéculas se adelgazan, y las lagunas que la separan se llenan paulatinamente de corpúsculos linfáticos. Cuando las ramitas arteriales alcanzan un diámetro menor de una décima de milímetro, la túnica adventicia está completamente transformada en tejido citógeno, transformación que alcanza en parte á la túnica media. De la superficie de semejante cubierta adenoidea surgen, de trecho en trecho, gruesas elevaciones que no son otra cosa que los corpúsculos citados de Malpigio, y multitud de expansiones citógenas continuadas con los cordones anastomosados de la pulpa.

Sobre las paredes venosas se depone asimismo el tejido adenoideo. Las gruesas venas yacen en vaina común con las arterias; mas tan pronto como aquéllas se ramifican, apártanse de éstas, adquiriendo cubierta adenoide propia que no dura mucho, pues á poco espacio se resuelve en multitud de trabéculas adenoides continuadas con los cordones pulposos y toda la trama citógena del bazo.

En resumen, las formaciones citógenas del bazo son: los corpúsculos de Malpigio; las paredes venosas y arteriales transformadas, y los cordones anastomosados de las cavidades de la pulpa; partes unidas en sistema continuo y limitando espacios donde se aloja la pulpa ó barro esplénico.

Espacios cavernosos.—Están representados por los intervalos que resultan entre los cordones citógenos y todas las superficies de inserción de los mismos sobre el estroma conjuntivo, los corpúsculos de Malpigio y las túnicas vasculares. Estas lagunas hállanse en recíproca comunicación y se continúan de una parte con la cavidad de las pequeñas arterias y de otra con la de las últimas ramificaciones venosas. Un epitelio de células peliculares delicadísimas reviste todo este vasto sistema lacunario, donde circula la sangre mezclada á los elementos especiales de la pulpa.

Pulpa esplénica.—Cuando se exprime un pedazo de tejido cavernoso esplénico, pónese en libertad un líquido espeso, rojizo, á que se ha dado el nombre de *barro esplénico.* Convenientemente diluído en fresco en el licor sodo-metílico, ofrece este barro multitud de elementos, entre los que figuran como formas principales: 1.ª Gran número de hematíes ordinarios. 2.ª Multitud de esférulas hialinas, teñidas unas por la hemoglobina, absolutamente incoloras otras, que parecen desechos de hematíes. Las esférulas incoloras son notablemente pálidas, de forma discoidea ó de lente biconvexa, de un diámetro de 2 á 4 μ; tienen gran tendencia á formar acúmulos, como las plaquetas, de las que quizás son las formas primordiales (véase la pág. 392); y cuando se las trata por el agua ácida, dejan ver un protoplasma finamente granuloso y una finísima membrana. 3.ª Células esferoidales de 4 á 6 μ de diámetro, formadas casi exclusivamente del núcleo, pues apenas si en torno de ellas se descubre vestigio de protoplasma. Tales elementos son acaso los más numerosos de la pulpa esplénica. 4.ª Células gruesas, esféricas, de contorno limpio, provistas de un núcleo globuloso y robusto y de un protoplasma casi homogéneo y tingible en violeta por el violado de metilo. El diámetro de estas células oscila en el conejo entre 10 y 16 μ. A menudo se muestran en kariokinesis. Por la hialinidad de su protoplasma, así como por su perfecta redondez, son estas células comparables con las hialinas y semihialinas de la médula ósea y tejido citógeno (véase la pág. 383). 5.ª Corpúsculos rojos de Neuman, es decir, células rojas nucleadas, enteramente iguales á las de la médula ósea. Su diámetro oscila entre 6 y 8 μ, y el núcleo, rico en cromatina, yace casi siempre cerca del contorno del protoplasma hemoglóbico. Entre éstas y las anteriores se ven formas

intermedias, advirtiéndose algunas con poca ó ninguna hemoglobina, cuyo protoplasma se prolonga en mamelón ó en pera. 6.ª Leucocitos de varias formas y tamaños, ricos en granulaciones brillantes colorables por las anilinas. Algunos de los más voluminosos contienen trozos de glóbulos rojos y aun hematíes completos. 7.ª A veces se hallan en la pulpa esplénica células gigantes semejantes á las mieloplaxias.

Como acabamos de ver, estos elementos tienen gran semejanza con los de la médula ósea, y no parece aventurado suponer que en el bazo como en esta última se engendran glóbulos rojos y quizás los mismos leucocitos. Pero al lado de esta actividad creadora hay que admitir una función de destrucción y desintegración de los hematíes. Pruébanlo la gran cantidad de pedazos hemoglóbicos que pululan por el barro esplénico y la existencia constante de leucocitos portadores de desechos globulares. ¿Dónde van las esférulas hialinas que resultan de los hematíes destruídos de la pulpa? No es fácil adivinarlo, aunque algunas propiedades comunes con las plaquetas y el fácil acarreo de aquéllas por la sangre, nos indujeron á emitir la opinión (pág. 392) de que quizás corresponden á las formas primeras de las plaquetas, al menos en los mamíferos donde tales elementos carecen de núcleo y de categoría celular.

CAPÍTULO XVII

SISTEMA SEROSO

1.—**Def.** Las serosas son membranas cerradas, de origen mesodérmico, situadas sobre órganos movibles y compuestas de dos tejidos simples: el epitelial y el conjuntivo. La trama particular que resulta de la asociación de estos tejidos en todas las serosas, constituye el *sistema seroso.*

2.—**Disposición general y caracteres físicos.** Las serosas son sacos cerrados cuyas superficies interiores, lubrificadas por mayor ó menor cantidad de liquido albuminoide, hállanse ordinariamente en mútuo contacto.

Hállanse las serosas en todos los parajes del organismo donde hay dos superficies orgánicas movibles y contiguas, cuya frotación conviene disminuir. Cuando no son órganos voluminosos los que deben frotarse, sino pequeñas porciones de tejidos y los movimientos alcanzan poca extensión, en lugar de grandes serosas existen pequeñas cavidades de deslizamiento, que no son más que las lagunas del tejido conjuntivo laxo. A beneficio de estas lagunas se mueve la piel sobre las aponeurosis, el globo ocular sobre los órganos vecinos, los músculos sobre sus cubiertas, etc. Entre las pequeñas cavidades del tejido conectivo y los grandes espacios serosos viscerales y articulares existen transiciones de forma y de estructura; de modo, que si cabe considerar aquéllas como serosas rudimentarias, cabe también estimar los últimos como lagunas conectivas ampliadas y transformadas.

La pared de las serosas, aunque continua consigo misma, consiente una distinción en dos hojas: una *parietal* y otra *visceral.* La parietal tapiza la parte fija ó continente; la visceral, el órgano movible ó contenido. La primera es densa, fibrosa, poco adherente y

refuerza las paredes de las cavidades esplágnicas. La segunda es más delicada y transparente, adhiriendo íntimamente á los órganos que reviste. Estos órganos nunca son aforrados por completo por la hoja visceral: quedan siempre parajes por los que, sin obstáculo alguno, pueden llegar á los mismos los tejidos de relación interorgánica (vasos y nervios). Al nivel del paso de estas partes vectoras, la hoja visceral se reune con la parietal, constituyendo á menudo repliegues ó ligamentos.

3.—**Clasificación.** Poseyendo las serosas una textura muy semejante, es difícil clasificarlas según un criterio histológico puro. Más fáciles y aplicables parecen los principios anatómicos y topográficos. Bichat agrupaba las serosas en dos clases: *serosas propiamente dichas* y *serosas sinoviales.* Colocaba entre las primeras las esplágnicas y subdividía las segundas en verdaderas ó falsas, según se tratara de las articulares ó de las bolsas subcutáneas. Henle, con mejor acuerdo, basó su clasificación en el concepto estructural, separando las serosas en *verdaderas* ó *completas,* que son las que contienen los dos factores epitelial y conjuntivo (serosas esplágnicas articulares); y en *falsas* ó *incompletas* correspondientes á las que carecen en todo ó en parte del epitelio (subcutáneas y tendinosas). Nosotros nos atendremos á este ordenamiento.

4.—**Caracteres microscópicos.** *Serosas verdaderas ó esplágnicas.* Compréndense en este grupo: el peritoneo, las pleuras, el pericardio, la vaginal ó testicular, la aracnoides y las articulares. Expondremos primero los caracteres histológicos comunes á estas membranas y después los referentes á algunas de ellas.

Toda serosa contiene dos capas: la *conjuntiva* y la *endotelial.* La conjuntiva está constituída por hacecillos colágenos, finos, entrecruzados en todos sentidos paralelamente á la superficie serosa, y unidos flojamente por cierta cantidad de materia amorfa semisólida. Estos hacecillos constituyen una capa aislada y coherente en los ligamentos (omentos, epiplones) que enlazan la hoja parietal con la visceral; pero se confunden en los demás casos con el tejido conectivo subseroso. A los hacecillos supradichos se asocian, en proporciones variables, fibras elásticas finas y vasos capilares dispuestos en red ó malla membranosa. Ciertos autores admiten (Bizzozero por ejemplo), entre el tejido conectivo y el endotelio, una

capa análoga á las membranas basales de otros epitelios. Dicha capa ofrecería aspecto granuloso ó ligeramente estriado.

El epitelio es aplanado y de una sola capa, excepto en las serosas articulares, donde muestra en ciertos puntos verdadera estratificación. Las células son poligonales, y sus contornos, flexuosos é irregulares, ofrecen con frecuencia, después de la coloración negra por el nitrato de plata, puntos negros (estomas de los autores). Cuando una serosa se estira antes de impregnarla, las células se despegan menos por ciertos puntos, donde quizás existen hilos de comunicación, como los que demostramos en la membrana de Descemet.

La serosa peritoneal ofrece, además de la textura general indicada, una disposición especial al nivel del epiplon mayor. Este repliegue presenta el aspecto de una redecilla de mallas apretadas y desiguales. Visto al microscopio, se advierte que cada trabécula está constituída por fascículos de tejido conectivo y células aplanadas. Las trabéculas más espesas llevan un vaso capilar, contienen á menudo células grasientas y constan de numerosos fascículos superpuestos. En torno de las trabéculas, por delicadas que sean, pasa el endotelio peritoneal, recubriéndolas á la manera del epitelio peritendinoso.

En el endocardio y pericardio, el tejido elástico se presenta mucho más abundante que en el peritoneo. En las sinoviales predomina el conjuntivo sobre el elástico; distínguense, además, por la riqueza de su red capilar.

Las serosas poseen nervios que se terminan en ellas de un modo desconocido. En algunos animales (gato), el mesenterio y el mesocolon poseen corpúsculos de Pacini.

Las *serosas falsas*, tales como las *peritendinosas* y las *subcutáneas*, ofrecen una capa conectiva difícilmente aislable de los tejidos próximos, y poco rica en vasos y fibras elásticas. El endotelio es discontinuo y está representado por células conectivas aplastadas que revisten un número mayor ó menor de fascículos limitantes. Estas serosas representan la transición entre las esplágnicas y las cavidades del tejido conectivo.

CAPÍTULO XVIII

SISTEMA TEGUMENTARIO

1.—**Def.** Llámase sistema tegumentario á la trama especial, mezcla de los tejidos epitelial y conjuntivo, de que están construídas las membranas limitantes del organismo.

2.— **Div.** Comprende este sistema dos variedades principales: la *piel* ó *tegumento cutáneo* en relación directa con el mundo exterior; y las *mucosas*, indirectamente conexionadas con éste.

TEGUMENTO EXTERNO

3.—**Disposición general y caracteres físicos.** La piel es una cubierta elástica, semitransparente, que rodea todo el organismo, tapizándolo con holgura para no entorpecer sus movimientos.

El *espesor* de la piel varía en las divèrsas regiones: es delgada en el rostro y en el lado de la flexión de los miembros, y espesa del lado de la extensión y al nivel de las partes salientes.

El *color* de la piel varía desde el negro hasta el blanco, pasando por graduaciones dependientes del *tanto* de melanina que contiene. Aparte de su color intrínseco, que varía mucho según las razas y las regiones orgánicas, permite traslucir el de los órganos que recubre, matizándose de rosa, amarillo, azul, violeta, etc., según que tapice capilares, tejido adiposo, venas, etc. Goza la piel de cierta *higrometricidad* limitada en gran parte por la grasa que empapa el epidermis, la cual opone un serio obstáculo al tránsito del agua, por lo que casi todo el cambio entre el dermis y el mundo exterior se realiza al nivel de las aberturas glandulares.

Por su superficie exhibe el tegumento numerosas eminencias y depresiones. Las depresiones están representadas por surcos anas-

tomosados entre sí, que limitan espacios poligonales ó de otras formas, á su vez cortados en campos más diminutos por otros surcos más superficiales. Los surcos más profundos hállanse en la piel que reviste las flexuras de los miembros; vienen luego por orden de profundidad los del lado de la extensión, y por último, los de las superficies cutáneas interarticulares. En aquellos parajes en que el epidermis es grueso, como en la planta del pie y palma de la mano, encuéntranse además unas crestas muy próximas, paralelas ó concéntricas, en cuyas cúspides se notan los agujeros de las glándulas sudoríparas. Semejantes líneas, abundantísimas especialmente en el pulpejo de los dedos, traducen exteriormente las hileras de papilas sensibles del dermis.

4.—**Caracteres micrográficos.** Cuando se examina al microscopio un corte perpendicular de la piel, nótase que ésta se compone de dos capas de aspecto y naturaleza distintos: una externa, dura, semitransparente y amarillenta, el *epidermis;* otra interna, blanquecina, opaca y sumamente blanda, el *dermis.* La línea que las separa es rigurosa y ondulada, correspondiendo al contorno de las papilas.

Dermis. Constituye la parte mesodérmica y vascular de la piel, distinguida á su vez en *corion* ó dermis papilar, y *tejido conjuntivo subcutáneo.*

El *corion* no se dispone en capa unida, sino que ofrece por su parte externa multitud de elevaciones cónicas, ya simples ya escalonadas, que penetran en unas depresiones del epidermis. El número de estas eminencias ó papilas guarda relación con el grado de sensibilidad de la piel, por lo cual las más apretadas y altas corresponden á la región palmar de los dedos, y las más chatas y escasas á la del tronco. Constan las papilas de fascículos conectivos finos, apretados, cruzados en varias direcciones, dejando apenas lagunas para corpúsculos aplanados ó estelares. Mézclanse á estos fascículos redes delicadas de fibras elásticas y uno ó dos capilares dispuestos en asa y unidos á la red subcutánea sanguínea situada en plano más inferior. En algunas papilas se encierra además un corpúsculo de Meissner (véase pág. 589). Por debajo de las papilas, y uniéndolas en un todo coherente, se ve un tejido conectivo flojo de anchos haces y amplias lagunas separatorias. A esta parte del der-

mis se ha dado por algunos el nombre de *capa reticulada* del corion. La orientación de los haces conectivos de tal zona, según Langer, no es irregular, sino prefijada, limitando unas figuras ó campos romboidales, cuyo eje mayor se dispone en el sentido en que son más fáciles los movimientos cutáneos.

El tejido conjuntivo subcutáneo es una capa espesa, elástica, especie de cojinete conectivo-grasiento que reviste al organismo, sobre todo al nivel de ciertas regiones donde forma considerables masas. Demuestra el microscopio en ella fuertes haces conjuntivos anastomosados, separatorios de grandes alvéolos redondeados donde se albergan los lóbulos adiposos (figura 201, i), los glomérulos sudoríparos y folículos pilosos. La mayor parte de los tabiques conectivos interalveolares llevan dirección vertical ú oblicua, insertándose por sus extremos superficiales en el corion, y por sus profundos en la fascia superficial.

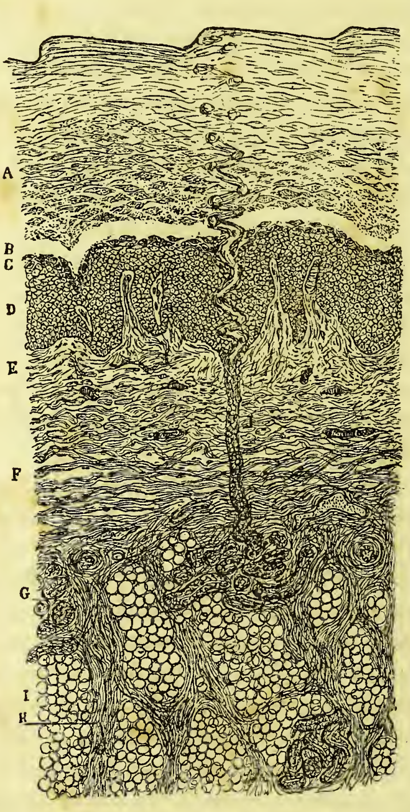


Fig. 201.—Corte perpendicular de la piel del pulpejo de un dedo.—A, capa córnea; B, capa lúcida; C, estrato granuloso; D, cuerpo de Malpigio ó epitelio vivo; E, dermis papilar; F, dermis reticulado; G, corte del glomérulo de una glándula sudorípara; I, lobulillo adiposo; H, tabique conjuntivo interlobular; J, glándula sudorípara.

Las redes elásticas constan aquí de fibras más espesas que en el corion; y los capilares, mucho menos abundantes que en éste, constituyen redes especiales alrededor de los

lóbulos adiposos, glándulas y folículos pilosos. Añadamos aún la existencia de fibras musculares lisas y estriadas; éstas, en la piel de la cara, formando la inserción movible de los músculos fisionómicos, y aquéllas disponiéndose en haces irregulares en el pezón, dartos, y especialmente junto á los folículos pilosos (músculos *arrectores pili)*.

Epidermis. En contacto con la atmósfera, dura, elástica, extensible, esta capa ofrece un espesor variable, que guarda relación, en cada región del tegumento, con el grado de exposición á los roces y presiones exteriores. En ella se distinguen dos zonas: una muerta, keratinizada, el *epidermis córneo;* otra viva y en plena actividad proliferante, el *cuerpo mucoso* ó de Malpigio *(capa germinal* de Flemming).

El *cuerpo de Malpigio*, examinado de abajo arriba, ofrece capas diversas, así por la forma como por la estructura celular. La hilera más honda, limitante de las papilas, se distingue por el alargamiento de sus elementos, los cuales presentan en su extremo inferior una cutícula brillante, estriada, como deshilachada, cuyas asperezas sirven de punto de inserción á los fascículos del dermis *(membrana basal* de los autores). Según los histólogos antiguos, estas células son las que de preferencia contienen el pigmento en las pieles negras ó morenas; pero recientes trabajos de Kölliker, Aebi, etc., han demostrado que los elementos portadores de la melanina son de naturaleza conjuntiva, especie de corpúsculos emigrantes melánicos insinuados y ramificados entre los corpúsculos malpigianos; disposición análoga á la que con independencia de estos autores habíamos hallado nosotros en los elementos melánicos del bulbo piloso (pág. 343). Las filas celulares situadas por cima de la precedente, están constituídas por elementos poliédricos de un diámetro mayor y más ricos en protoplasma. El núcleo posee menos cromatina y frecuentemente albergan una gota de materia coloidea. A medida que estos elementos ocupan un plano más superficial, vuélvense más aplastados, y la cromatina desaparece ó se reduce á un solo grano perfectamente aislado y distante de la membrana nuclear. El cemento que junta todos estos elementos es blando y, á menudo, presenta leucocitos trasmigrados y fuertemente deformados.

Como es bien sabido, Bizzozero (*Sulla struttura degli Epiteli pavimentosi stratificati,* Centralbl., f. medicinische Wissensch., 1871), y Ranvier (*Nouvelles recherches sur le mode d'union des cellules du corps muqueux de Malpighi.* Comp. rend. de l' Acad. des Sciences, t. 89, 1879), han descrito en el cemento separatorio de las células malpigianas filamentos comunicantes que, para este último autor, serían expansiones ó prolongaciones de hilos intraprotoplasmáticos. Como ya en otra ocasión hemos expuesto, pág. 229. (*Contribution à l' étude des cellules anastomosées des épitheliums pavimenteux stratifies.* Intern. Monatsch. f. Histologie, etc., 1886), nuestras observaciones confirman las de dichos histólogos, habiéndonos conducido á suponer, en vista de la refringencia y engruesamiento de la porción extracelulár de los filamentos de unión, la presencia á su alrededor, así como en torno del cuerpo protoplasmático, de una verdadera membrana protectriz, dura y resistente. M. Ide (*La membrane des cellules du corps muqueux de Malpighi.* La cellule, 1888), que recientemente ha confirmado la existencia de esta cubierta, añade que no es hialina, sino reticulada, y que de sus nudos parten los filamentos intercelulares. Esta última parte de la opinión de Ide nos parece errónea, en cuanto niega que los hilos se prolonguen intraprotoplasmáticamente, prolongación que por otra parte es facilísima de observar en las células malpigianas.

En la línea de unión de la capa córnea y la malpigiana, las células se aplanan; su retículo se exagera tornándose recio y brillante; el núcleo ofrece dentro de una cubierta acromática muy dilatada, un grano cromático fuertemente tingible por el carmín; y en las mallas protoplasmáticas se encierran multitud de esferas brillantes colorables por el carmín, hematoxilina, anilinas, etc. Estas esferitas, llamadas *granos de eleidina* por Ranvier (*keratohialina* de Waldeyer), prestan á la hilera celular aspecto granuloso (figura 201, c), y de aquí el nombre de *zona granulosa* ó *stratum granulosum* del epidermis con que se la conoce.

Las células de la zona granulosa son las últimas en que se perciben filamentos de unión. Las situadas por encima cambian rápidamente de aspecto, pierden su afinidad por el carmín, hácense hialinas y brillantes, desaparece el núcleo ó se reduce á una granulación apenas perceptible, originándose así una zona epidérmica, clara y homogénea (*stratum lucidum*) (fig. 201, B).

El *epidermis córneo* alcanza en el pulpejo de los dedos, planta del pie, etc., un espesor considerable que contrasta con la delgadez

del mismo en las regiones poco expuestas á frotes y presiones (piel de los párpados, mejilla, cara interna de los brazos, etc.). Al microscopio se distingue esta parte de la piel del resto del epidermis, por su gran transparencia (menos, sin embargo, que la del *stratum lucidum)*, por la ausencia de núcleos, por el gran volumen y aplastamiento de las células, y, más que nada, por la casi imposibilidad de discernir los contornos de éstas; bien que si se las trata por el ácido sulfúrico ó la potasa limítanse fácilmente, demostrándose que no existe soldadura. Cierta cantidad de grasa que infiltra dicha zona, así como el *stratum lucidum*, la presta la propiedad de teñirse en negro por el ácido ósmico. Tíñese, además, fuertemente por las anilinas (safranina, fuchina, violeta de genciana, ácido pícrico, etc.), y rechaza los agentes colorantes del núcleo (carmín, hematoxilina, etc.). No obstante, por cima del *stratum lucidum*, hay siempre algunas células que se coloran algo por el carmín.

MUCOSAS

1.—**Def.** Así se denominan las membranas de origen ento- ó ectodérmico, que revisten cavidades interiores comunicantes con la piel al nivel de las aberturas naturales, y se hallan lubrificadas constantemente por líquidos más ó menos ricos en mucina.

2.—**Caracteres físicos y disposición.** Las mucosas como la piel son de color blanco semitransparente, pero sin matices morenos, á causa de su carencia de *pigmentum* melánico. Su *dureza* es menor que la de ésta, efecto del plasma que constantemente las embebe y lubrifica. Por su cara profunda se adhieren al tejido conectivo intersticial ó interorgánico, y por su externa ó libre se prolongan en eminencias de varia longitud (papilas y vellosidades).

3.—**División.** Con arreglo á la naturaleza del epitelio que las constituye en su zona superficial, las mucosas pueden distinguirse en: 1.º, *mucosas de epitelio aplanado* (bucal, faríngea, esofágica, conjuntival, de los órganos genitales externos, del conducto auditivo etcétera); 2.º, *mucosas de epitelio alargado* (intestinal, nasal, tráqueo-pulmonar, de los órganos genitales internos, etc.).

a. Mucosas de epitelio aplanado. Esta variedad es la que más se aproxima á la piel por su estructura, así como por el papel fisioló-

gico que desempeña (protección y sensibilidad). El tipo de tales mucosas lo hallamos en la lengua y en el esófago.

El *dermis* es grueso y está construído de tejido conjuntivo, fibras elásticas y capilares. Por el lado superficial, la trama así formada se prolonga en papilas de varia longitud y tamaño (caliciformes, fungiformes, hemiesféricas, foliadas, etc). Al igual del tegumento cutáneo la parte papilar del dermis *(membrana propia)*, se distingue de la zona más profunda (tejido *conjuntivo submucoso)* por la mayor delicadeza y apretamiento de los haces colágenos. En esta segunda zona, rica en fibras elásticas y en vasos, tanto linfáticos como sanguíneos, es donde yacen las glándulas.

El *epidermis* consta de varias hileras de células aplastadas que, como en la piel, cabe distinguir en dos grandes zonas: la *profunda* y la *superficial*. La *profunda* es recia, opalescente, colorable por el carmín y representa exactamente el cuerpo de Malpigio, pues sus células son poliédricas, están unidas por filamentos protoplasmáticos, y la hilera más honda consta de corpúsculos alargados, provistos de una chapa ó membrana limitante basal. El núcleo de estos últimos elementos ocupa casi todo el protoplasma, es muy rico en cromatina y exhibe, á menudo, fases kariokinéticas. La zona *superficial* comprende elementos más anchos, aplastados y transparentes; elementos que han sufrido la keratinización, pero que todavía conservan un núcleo lenticular y casi homogéneo. Entre ambas zonas superficial y profunda no existen granos de *eleidina* ni las capas *brillante* y *granulosa* del epidermis cutáneo. En cambio, muéstranse los filamentos de unión hasta en las células más superficiales.

6.—*Mucosas de epitelio alargado.* Como casi todas ellas yacen en órganos profundos, poco expuestos á roces y colisiones exteriores, el epitelio que las reviste suele ser de una sola capa y con todos los caracteres de las células vivas. Por el contrario, el dermis adquiere un considerable desarrollo, complicándose notablemente su disposición merced á la longitud y riqueza de sus papilas y glándulas.

El tipo de estas mucosas se da en el intestino, cuya estructura expondremos brevemente (fig. 202).

El *epidermis* consta de una sola capa de células prismáticas, generalmente exagonales, provistas en su cara intestinal de una

chapa estriada (véase pág. 304). Algunos de estos elementos se presentan ahuecados á medias y con una figura que recuerda la de una copa *(células caliciformes)*. Semejante ahuecamiento, que nosotros



FIG. 202.— Corte de la mucosa intestinal del conejo. — A, vellosidad seccionada á lo largo; B, capa de las glándulas de Lieberkühn; C, capa muscular de la mucosa; D, capa conjuntiva submucosa que contiene una glándula de Brunero; E, capa muscular de fibras transversales; G, capa muscular de fibras longitudinales; *a*, epitelio prismático; *b*, capilar sanguineo; *c*, células epiteliales seccionadas de través; *d*, interior de un acini de glándula de Brunero; *f*, vaso.

hemos considerado como efecto de la destrucción del protoplasma, el cual se convertiría en mucina (pág. 307), estímanlo ciertos auto-

res (Paneth), como un fenómeno de actividad secretoria. De ser cierto este dictamen, las caliciformes vendrían á ser glándulas unicelulares; y el mismo intestino resultaría una glándula tubulosa gigantesca, si, como Paneth afirma, el estado caliciforme representa una etapa funcional por la que pasan todas las células epiteliales de aquél. Pasado este período activo, las caliciformes vuelven á ser, según dicho autor, epiteliales prismáticas ordinarias, alternando la transformación, á semejanza de lo que sucede con las células salivales.

Entre los elementos prismáticos con chapa, se ven á menudo células más pequeñas, globulosas ó fusiformes, de núcleo esférico y rico en cromatina, que unos autores toman como elementos jóvenes destinados á reemplazar á los caducos, y otros como leucocitos emigrados.

La extremidad profunda de los elementos cilíndricos aparece comúnmente aplanada. No obstante, en las secciones de las vellosidades fijadas en el líquido de Flemming y englobadas en parafina, obsérvase casi siempre que dicha extremidad se prolonga, mediante una expansión cónica y sumamente pálida, hasta por debajo de la zona ó membrana basal (fig. 203, D).

En cuanto al núcleo, es un corpúsculo elipsoideo, pobre en cromatina, yacente más cerca del extremo interior que del superior de dichos elementos. Jamás lo hemos hallado en vías de kariokinesis. En cambio, no es raro ver dos núcleos en un solo elemento, lo que prueba que la renovación celular se realiza á expensas de los elementos preexistentes. No siempre se muestran idénticos los dos núcleos de las células en vías de multiplicación. Uno de ellos, ordinariamente más profundo, posee menor tamaño, forma esférica, y una red cromática rica y sumamente apretada. Dawidoff, que ha descrito primeramente este doble núcleo, le ha denominado *núcleo accesorio.*

Debajo del epitelio, y á veces á cierta distancia (fig. 203, E) se distingue una membrana basal, espesa, estriada á lo largo, perforada ó discontinua en ciertos parajes, la cual, á diferencia de las membranas análogas, encierra en su espesor núcleos pequeños y aplastados. Sobre la cara exterior de la misma parecen insertarse las expansiones de los corpúsculos epiteliales (fig. 203).

Es difícil decidirse acerca de la naturaleza de esta membrana. Quain, Watney, Krause, etc., la consideran de carácter endotelial, mientras que otros la reputan amorfa ó de naturaleza conjuntiva. Recientemente (1887), Dawidoff ha expuesto la opinión de que en gran parte está constituída por las ramificaciones entrecruzadas de las expansiones descendentes de las células epiteliales. Muchas de estas ramificaciones, después de atravesar los agujeros de la basal, vendrían, según este autor, á anastomosarse con los corpúsculos conectivos del eje de la vellosidad.

El *dermis* de la mucosa intestinal comprende dos subcapas: la *papilar* y la *glandular*. La *primera*, que forma esencialmente la parte central de las vellosidades, consta de elementos conectivos gruesos, poliédricos ó estrellados (fig. 203, F), que rellenan los intervalos resultantes entre la red capilar y el quilífero central de una parte, y la membrana basal de otra. Como magma de unión hállase una materia semilíquida donde no es posible distinguir, al menos en las vellosidades, verdaderos fascículos conjuntivos.

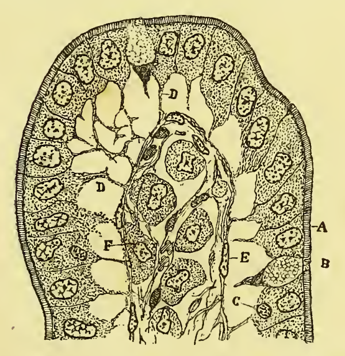


FIG. 203.—Corte longitudinal de una vellosidad intestinal del conejo de Indias. Inclusión en la parafina, teñido á la hematoxilina y observación con el obj. 1,30 apochr. Zeiss.—A, chapa estriada del epitelio; B, célula caliciforme con su red interior; C, núcleo secundario; D, expansión inferior de una célula epitelial; E, membrana basal y sus núcleos; F, célula conectiva.

La *zona glandular* se presenta formada de fascículos conectivos finos entrecruzados y limitando espacios tubulares paralelos, perpendicularmente dirigidos á la superficie intestinal. En tales huecos alójanse las glándulas tubulosas ó de Lieberkühn (véase la pág. 638). Una red capilar sanguínea muy rica las rodea.

Por debajo de la zona glandular, el dermis se espesa tomando aspecto de tejido conjuntivo laxo (fig. 202, D) *(capa submucosa)*. Los haces colágenos de esta zona se apartan en ciertos puntos para recibir los acini de las glándulas de Brunero (fig. 202, d). Entre la capa dermoidea que aloja estas glándulas y las de Lieberkühn existe un delgado estrato de fibras musculares lisas (fig. 202, C).

Los vasos linfáticos constituyen una red tupida, situada sobre la

membrana músculo-mucosa, es decir, por debajo de los fondos de saco de las glándulas tubulosas. De esta red emergen linfáticos ascendentes que, después de anastomosarse entre sí, terminan en lo alto de la vellosidad por un capilar en fondo de saco. En las anchas vellosidades suelen hallarse dos ó más de estos vasos linfáticos unidos en red floja, disposición que suele ser la regla en el conejo y los vertebrados inferiores.

FIN

ÍNDICE DE MATERIAS

PRIMERA PARTE

Técnica micrográfica

SECCIÓN PRIMERA

SECCIÓN SEGUNDA

REACTIVOS

SECCIÓN TERCERA

MÉTODOS HISTOLÓGICOS

SECCIÓN CUARTA

CONSERVACIÓN DEFINITIVA DE LAS PREPARACIONES

SEGUNDA PARTE

Anatomía general

SECCIÓN TERCERA

HISTOLOGÍA



